PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 6 : C07K 14/575, A61K 38/22

A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: **WO 97/46584**

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 11. Dezember 1997 (11.12.97)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP97/02930

(22) Internationales Anmeldedatum: 5. Juni 1997 (05.06.97)

(30) Prioritätsdaten:
196 22 502.7 5. Juni 1996 (05.06.96) DE
196 37 230.5 13. September 1996 (13.09.96) DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten ausser US)*: BOEHRINGER MANNHEIM GMBH [DE/DE]; D-68298 Mannheim (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)*: HOFFMANN, Eike [DE/DE]; Rathausstrasse 71, D-68519 Viernheim (DE). GÖKE, Rüdiger [DE/DE]; Sommerstrasse 3, D-35043 Marburg (DE). GÖKE, Burkhard-Johannes [DE/DE]; Mariborer Strasse 22, D-35637 Marburg (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: BOEHRINGER MANNHEIM GMBH; Patentabteilung, D-68298 Mannheim (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, ARIPO Patent (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht
Mit internationalem Recherchenbericht.
Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

(54) Title: EXENDIN ANALOGUES, PROCESSES FOR THEIR PREPARATION AND MEDICAMENTS CONTAINING THEM

(54) Bezeichnung: EXENDIN-ANALOGA, VERFAHREN ZU DEREN HERSTELLUNG UND DIESE ENTHALTENDE ARZNEIMITTEL

SEQ ID NO: 1

```
1         5              10                  15
H  S  D  G  T  F  T  S  D  L  S  K  Q  M  E  E  E  A  V
20                25                  30
R  L  F  I  E  W  L  K  N  G  X
```

(I)

SEQ ID NO: 2

```
1         5              10                  15
H  G  E  G  T  F  T  S  D  L  S  K  Q  M  E  E  E  A  V
20                25                  30
R  L  F  I  E  W  L  K  N  G  X
```

(II)

(57) Abstract

The invention concerns novel exendin analogues which can be used in the treatment of diabetes mellitus. The invention also concerns processes for preparing these substances and medicaments containing them. The exendin analogues are derived from SEQ ID NO: 1 (I) or SEQ ID NO: 2 (II).

(57) Zusammenfassung

Diese Erfindung betrifft neue Exendin-Analoga, welche bei der Therapie des Diabetes mellitus eingesetzt werden können, Verfahren zu deren Herstellung und diese enthaltende Arzneimittel. Die Exendin-Analoga leiten sich von SEQ ID NO: 1 (I) oder SEQ ID NO: 2 (II) ab.

BEST AVAILABLE COPY

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabon	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

Exendin-Analoga, Verfahren zu deren Herstellung und diese enthaltende Arzneimittel

Diese Erfindung betrifft neue Exendin-Analoga, welche bei der Therapie des Diabetes mellitus eingesetzt werden können, Verfahren zu deren Herstellung und diese enthaltende Arzneimittel.

Hintergrund der Erfindung

Eine funktionelle Verbindung zwischen Dünndarm und exokrinem Pankreas wurde in den sechziger Jahren bewiesen, nachdem die exakte Bestimmung von Insulin im Plasma möglich wurde. Die Insulinantwort nach oraler Glukosegabe ist wesentlich kräftiger als die nach intravenöser Glukoseapplikation, auch wenn identische Glukoseplasmaspiegel erreicht werden. Diesen "Inkretin-Effekt" erklärt man im funktionellen Verbund der entero-insulären Achse. Verantwortlich für diesen Effekt sind Darmhormone, die nach Mahlzeiten vom Dünndarm freigesetzt, erhöht meßbar im Plasma zirkulieren und die Glukose-induzierte Insulinfreisetzung verstärken. Neben dem klassischen Inkretinhormon "Gastric inhibitory polypeptide I" (GIP), ist heute "Glucagon-like peptide-1" (GLP-1) in den Vordergrund des Interesses gerückt. In relativ kurzer Zeit ist GLP-1 vom physiologisch interessantesten Inkretinhormon-Kandidaten zur potentiellen Alternative zur Behandlung des Diabetes mellitus Typ II gereift. Die vorliegende Erfindung beschreibt neue Substanzen, die dem natürlich vorkommenden GLP-1 Molekül in der Wirkung nachempfunden sind. Die neuen Substanzen zeichnen sich durch erhöhte Stabilität bei erhaltener Wirksamkeit aus.

Antidiabetogene Wirkung

Infusion und subkutane Injektion von GLP-1 bewirken bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ II eine deutliche Steigerung der Insulinsekretion sowie eine Hemmung der Glukagonfreisetzung (Gutniak, M. (1992); Kreymann, B. (1987); Nathan, D.M. (1992); Nauck, M.A. (1993a & b)). Beides ist aus therapeutischer Sicht von Interesse und an der blutzuckersenkenden Wirkung von GLP-1 beteiligt: Insulin fördert an seinen

BESTÄTIGUNGSKOPIE

Zielgeweben die Glukoseaufnahme sowie eine Hemmung der Glukoneogenese. Desweiteren ist bei GLP-1-Analogen eine Verstärkung der Glukoseaufnahme in der Peripherie zu erwarten. Die Hemmung der Glukagonsekretion muß als indirekte GLP-1-Wirkung angesehen werden, da Glukagon-produzierende A-Zellen keine GLP-1 Rezeptoren exprimieren (Komatsu, R. (1989)). Vielmehr scheint dafür die erhöhte Insulin- und Somatostatinfreisetzung ausschlaggebend zu sein. Beide Hormone sind als Hemmstoffe der Glukagonfreisetzung bekannt.

Sicherlich tragen zwei molekulare Mechanismen zur GLP-1-induzierten Insulinfreisetzung bei Diabetes mellitus Typ II bei. Neben der direkten Verstärkung der Glukose-induzierten Insulinfreisetzung sensibilisiert GLP-1 eine Subgruppe von B-Zellen gegenüber dem Schlüsselreiz "Glukose" (Fehmann, H.C. (1991)) und möglicherweise auch gegenüber weiteren Stimuli, so daß insgesamt mehr B-Zellen Insulin sezernieren. Diese "Priming"-Wirkung erklärt am ehesten die Tatsache, daß GLP-1 trotz seiner relativ kurzen Plasma-Halbwertszeit zu einer langanhaltenden Insulinfreisetung führt.

Diese Wirkung ist abhängig von erhöhten Glukose-Spiegeln (> 108 mg/dl) (Göke, R. (1993a)). Sie unterscheidet GLP-1 grundsätzlich von den Sulfonylharnstoffen, die die Insulinsekretion unabhängig vom Glukose-Plasmaspiegel beeinflussen. Sinkt der Glukosewert unter 108 mg/dl, so versiegt die Insulinsekretion selbst bei intravenöser Infusion von GLP-1. Daher sind beim therapeutischen Einsatz von GLP-1 kaum Hypoglykämien zu erwarten. Tatsächlich wurden sie in den bisherigen klinischen Studien auch nicht beschrieben. Problematisch sind allerdings die pharmakokinetischen Eigenschaften von GLP-1. Aufgrund seiner sehr kurzen Halbwertszeit ist die Wirkdauer nur begrenzt.

Aus therapeutischer Sicht ist in jedem Fall die Synthese stabiler und wirkungsstarker GLP-1 analoger Peptide wünschenswert. Es wurden nun auf der Basis des ursprünglich aus dem Gift von Echsen isolierten Moleküls Exendin Peptidanaloga synthetisiert, mit dem Ziel verbesserte abbaustabilisierte Therapeutika mit verlängerter Wirkdauer zur Behandlung des Diabetes mellitus zu entwickeln. Diese Peptide haben die gleiche

pharmakologische Wirkung wie GLP-1, weisen aber überraschenderweise eine deutlich längere Halbwertszeit auf.

Die als Gegenstand der Erfindung beschriebenen neuen Peptidsequenzen zeigen Wirkung auf Insulinsynthese und -abgabe sowie Wirkung auf den Insulineffekt insbesondere die Glucoseaufnahme in den Zielgeweben Muskel- und Fettgewebe, sowie der Magenentleerung.

Gegenstand der Erfindung

Die vorliegende Erfindung basiert auf der Sequenz von Exendin-3 und Exendin-4, Peptiden, welche aus dem Sekret von *Heloderma horridum* bzw. *Heloderma suspectum* isoliert wurden (Eng, J. et al. (1990,1992)). Die Aminosäuren-Sequenz und Wirkung der beiden Peptide am Pankreas wurde bereits von mehreren Autoren publiziert (Eng, J. et al. (1990); Raufman, J. P.(1992); Göke, R. (1993b); Thorens, B. (1993)). Gegenstand dieser Erfindung sind neue verkürzte Exendin-Fragmente, welche die Aminosäuresequenzen von Exendin-3-(1-30), oder Exendin-4-(1-30) umfassen, wobei das C-terminale Ende dieser Sequenzen um bis zu 3 Aminosäuren verkürzt, vorzugsweise um höchstens 1 Aminosäure, und das N-terminale Ende um bis zu 2, vorzugsweise höchstens 1 Aminosäure, verkürzt sein kann. Überraschenderweise sind diese Exendin-Fragmente biologisch wirksam, obwohl die Aminosäuresequenz verkürzt ist. Verkürzte Aminosäuresequenzen sind wirtschaftlicher herzustellen als vergleichsweise längere Sequenzen. Besonders bevorzugt sind also Peptidfragmente mit den folgenden Sequenzen; insbesondere sind die Peptidfragmente, die auf Exendendin-3 (1-30) (Seq. ID No.1) beruhen:

SEQ ID NO: 1 basiert auf Exendin-3

1				5					10					15				
H	S	D	G	T	F	T	S	D	L	S	K	Q	M	E	E	E	A	V
20					25					30								
R	L	F	I	E	W	L	K	N	G	X_1								

SEQ ID NO: 2 basiert auf Exendin-4

1				5					10					15				
H	G	E	G	T	F	T	S	D	L	S	K	Q	M	E	E	E	A	V
20					25					30					35			38
R	L	F	I	E	W	L	K	N	G	X_1								

wobei die Aminosäuren an Position 1, 2, 28, 29 oder 30 je nach gewünschter Kettenlänge Teil der Sequenz sein können. Die Peptide sind vom N-Terminus zum C-Terminus durchnumeriert. X_1 bedeutet eine proteogene oder nichtproteogene Aminosäure außer Glycin.

Bevorzugt sind Exendin- und Exendinanaloga mit einer Kettenlänge von 1-27, besonders bevorzugt solche mit einer Kettenlänge 1-30.

Die Carboxylgruppe COR_3 der Aminosäure am C-terminalen Ende kann in freier Form (R_3 = OH) oder in Form eines physiologisch verträglichen Alkali- oder Erdalkalisalzes, wie z. B. des Natrium-, Kalium- oder Calciumsalzes vorliegen. Die Carboxylgruppe kann auch mit primären, sekundären oder tertiären Alkoholen verestert sein, wie z. B. Methanol, verzweigten oder unverzweigten C_1-C_6-Alkylalkoholen, insbesondere Ethylalkohol oder tert.-Butanol. Die Carboxylgruppe kann aber auch mit primären oder sekundären Aminen amidiert sein, wie z. B. Ammoniak, verzweigten oder unverzweigten C_1-C_6-Alkylaminen oder C_1-C_6-Di-Alkylaminen, insbesondere Methylamin oder Dimethylamin.

Die Aminogruppe der Aminosäure NR_1R_2 am N-terminalen Ende kann in freier Form (R_1, R_2 = H) oder in Form eines physiologisch verträglichen Salzes, wie z. B. des Chlorides oder Acetats vorliegen. Die Aminogruppe kann auch mit Säuren acetyliert sein, so daß R_1 = H und R_2 = Acetyl-, Trifluoracetyl-, Adamantyl-, oder durch die gängigen Aminoschutzgruppen der Peptidchemie, wie z. B. Fmoc, Z, Boc, Alloc geschützt vorliegen, oder N-alkyliert sein mit R_1 und/oder R_2 = C_1-C_6- Alkyl oder C_2-C_8-Alkenyl oder C_7-C_9-Aralkyl.

Unter Alkylresten werden geradkettige, verzweigte oder gegebenenfalls ringförmige Alkylreste verstanden, vorzugsweise Methyl, Ethyl, Isopropyl und Cyclohexyl.

Alle Exendin-Fragmente können als voll oder partiell geschützte Derivate vorliegen.

Gegenstand dieser Erfindung sind außerdem Exendin-Fragmente mit den oben genannten Eigenschaften und Sequenzlängen, bei denen zusätzlich mindestens eine aber maximal elf der unter (a) bis (p) aufgeführten Modifikationen durchgeführt wurden. Bevorzugt sind solche Exendin-Fragmente, die maximal 9, besonders bevorzugt sind solche, die maximal 5 der unter (a) bis (p) aufgeführten Modifikationen aufweisen.

(a) Die α-Aminosäure in Position 1 ist D-His, Ala, D-Ala, Gly, Lys oder D-Lys, wobei Ala, Gly oder Lys besonders bevorzugt werden; oder

(b) Die α-Aminosäure in Position 2 ist Ser, D-Ser, Thr, D-Thr, Gly, Ala, D-Ala, Ile, D-Ile, Val, D-Val, Leu oder D-Leu, bevorzugt Ser, Thr, Gly, Ala, Val, Ile oder Leu; oder

(c) Die α-Aminosäure in Position 3 ist Glu, D-Glu, Asp, D-Asp, Ala oder D-Ala, bevorzugt Glu, Asp oder Ala; oder

(d) Die Aminosäure in Position 4 ist Ala, D-Ala oder ß-Ala, bevorzugt Ala; oder

(e) Die α-Aminosäure in Position 5 ist Ser, Tyr oder Ala; oder

(f) Die α-Aminosäure in Position 6 ist Ala, Ile, Val, Leu, Cha oder Tyr, bevorzugt Ala, Ile, Val, Leu oder Tyr; oder

(g) Die α-Aminosäure in Position 7 ist Ala, D-Ala, Tyr, D-Tyr, Ser, D-Ser oder D-Thr, bevorzugt Ala, Tyr oder Ser; oder

(h) Die α-Aminosäure in Position 8 ist Ala, Tyr oder Thr; oder

(i) Die α-Aminosäure in Position 9 ist Ala, D-Ala, Glu, D-Glu oder D-Asp, bevorzugt Ala oder Glu; oder

(j) Die Aminosäuren in Position 10, 11, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 24, 28, 29 sind unabhängig voneinander eine proteinogene oder nicht-proteinogene D- oder L-Aminosäure, bevorzugt eine proteinogene L-Aminosäure; oder

(k) Die α-Aminosäure in Position 13 ist eine neutrale L-Aminosäure, bevorzugt eine neutrale proteinogene L-Aminosäure; oder

(l) Die α-Aminosäure in Position 14 wird zur Stabilisierung ersetzt durch eine neutrale L- oder D-Aminosäure, außer L-Leucin, bevorzugt durch Nle, D-Nle, Ala, D-Ala, Ile, D-Ile, Val oder D-Val, besonders bevorzugt sind Ile, Val oder Ala; oder

(m) Die α-Aminosäure in Position 22 ist D-Phe, Tyr, D-Tyr, Leu, D-Leu, Val, D-Val, L-Cha, D-Cha, ß-1-Nal, ß-2-Nal oder ß-1-D-Nal, bevorzugt sind Tyr, Leu oder Val; oder

(n) Die α-Aminosäure in Position 23 ist Leu, D-Leu, D-Ile, Val, D-Val, L-Cha, D-Cha, Tyr, D-Tyr, Phe oder D-Phe, bevorzugt sind Leu, Val, Tyr oder Phe; oder

(o) Die α-Aminosäure in Position 25, 26 oder 27 ist eine neutrale L- oder D-Aminosäure, bevorzugt eine neutrale, proteinogene L-Aminosäure; oder

(p) Die α-Aminosäure in Position 30 ist eine proteinogene oder nicht-proteinogene D- oder L-Aminosäure außer Glycin, bevorzugt Arg, D-Arg, Tyr oder D-Tyr, besonders bevorzugt sind Arg oder Tyr.

Unter den neuen Exendin-Fragmenten sind solche besonders bevorzugt, welche neben den schon genannten Eigenschaften und Sequenzlängen, an Positon 10 die Aminosäure Leucin und/oder an Position 19 die Aminosäure Valin, an Position 14 anstelle von Methionin die Aminosäure Isoleucin oder Alanin und an Position 30 Arginin enthalten. Besonders bevorzugt sind auch diejenigen Modifikationen von Exendin-Fragmenten, bei denen sich, zusätzlich zu den erwähnten besonders bevorzugten Aminosäuren an den Positionen 10, 14, 19 und 30, an der Position 2 eine der 20 bekannten proteinogenen L-Aminosäuren befindet.

Bevorzugte Exendinanaloga weisen einen Austausch in Position 3 oder 14 auf, besonders bevorzugt in Position 2, ganz besonders bevorzugt enthalten die Exendinanaloga nur proteinogene Aminosäuren.

Gegenstand der Erfindung sind neben neuen verkürzten und stabilisierten Exendin-3 und Exendin-4 Analoga auch Verfahren zur Herstellung dieser Analoga, bei denen man die

Analoga in Festphasensynthese aus geschützten, in den Analoga enthaltenen Aminosäuren, herstellt, die in der Reihenfolge aneinander gekoppelt werden, welche den Aminosäuresequenzen in den Analoga entsprechen und welche gegebenenfalls durch entsprechende nicht in den natürlichen Exendin-Peptiden vorkommende Aminosäuren ergänzt wurden.

Das Glycin in Position 30, der Exendin-3 oder Exendin-4-Sequenz wurde gegen eine andere proteogene oder nicht-proteogene Aminosäure ausgetauscht, um bei der Synthese nach der Abspaltung der aminoterminalen Schutzgruppe, keine Diketopiperazinbildung vorliegen zu haben.

Die Exendin-(1-30)-Analoga und Fragmente sind gegenüber den Exendinen-1(1-39) vorteilhaft, da durch die kürzeren Sequenzen diese Analoga einfacher und in höheren Ausbeuten synthetisiert werden können.

Die verwendeten Abkürzungen und Definitionen der Aminosäuren wurden in Pure Appl. Chem. 31, 639-45 (1972) und ibid. 40, 277-90 (1974) empfohlen und stimmen mit den PCT-Regeln (WIPO Standard St. 23: Recommendation for the Presentation of Nucleotide and Amino Acid Sequences in Patent Applications and in Published Patent Documents) überein. Die Ein- bzw. Drei-Buchstabencodes sind wie folgt:

Aminosäureabkürzungen

Aminosäure	Drei-Buchstaben-Code	Ein-Buchstaben-Code
Alanin	Ala	A
Arginin	Arg	R
Asparagin	Asn	N
Asparaginsäure	Asp	D
Cystein	Cys	C
Glutamin	Gln	Q

Glutaminsäure	Glu	E
Glycin	Gly	G
Histidin	His	H
Isoleucin	Ile	I
Leucin	Leu	L
Lysin	Lys	K
Methionin	Met	M
Phenylalanin	Phe	F
Prolin	Pro	P
Serin	Ser	S
Threonin	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosin	Tyr	Y
Valin	Val	V
andere Aminosäuren	Xaa	X

Die Abkürzungen stehen für L-Aminosäuren, falls keine weiteren Spezifikationen wie D- oder D,L- angegeben sind. D-Aminosäuren werden im Ein-Buchstabencode mit kleinen Buchstaben geschrieben. Bestimmte Aminosäuren, natürliche wie nichtnatürliche sind achiral, z. B. Glycin. Bei der Darstellung aller Peptide befindet sich das N-terminale Ende links und das C-terminale Ende rechts.

Beispiele für nichtproteinogene Aminosäuren sind in folgender Auflistung mit ihren Abkürzungen angegeben:

β-Alanin	β-Ala
o-Aminobenzoesäure	Oab
m-Aminobenzoesäure	Mab
p-Aminobenzoesäure	Pab
m-Aminomethylbenzoesäure	Amb

ω-Aminohexansäure	Ahx
ω-Aminoheptansäure	Ahp
ω-Aminooctansäure	Aoc
ω-Aminodecansäure	Ade
ω-Aminotetradecansäure	Atd
Citrullin	Cit
Cyclohexylalanin	Cha
α,γ-Diaminobuttersäure	Dab
α,β-Diaminopropionsäure	Dap
Methionin-Sulfoxid	Met(O)
C^{α}-Methyl-Alanin	Aib
N-Methyl-Glycin (Sarkosin)	Sar
Naphtylalanin	Nal
Norleucin	Nle
Ornithin	Orn
1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure	Tic

Alle Aminosäuren lassen sich nach ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften in die folgenden drei Hauptklassen unterteilen:

Sauer: Die Aminosäure gibt in wässriger Lösung und bei physiologischem pH ein Proton ab und trägt infolgedessen eine negative Ladung.

Basisch: Die Aminosäure nimmt in wässriger Lösung und bei physiologischem pH ein Proton auf und trägt infolgedessen eine positive Ladung.

Neutral: Die Aminosäure ist in wässriger Lösung und bei physiologischem pH in einem ungeladenen Zustand.

Die Definition „trägt eine positive/negative Ladung" oder „ ist im ungeladenen Zustand" trifft dabei dann zu, wenn im statistischen Mittel eine signifikante Anzahl von Aminosäuren einer Klasse (mindestens 25%) sich im genannten Zustand befindet.

Neben den 20 sogenannten proteinogenen Aminosäuren, deren Einbau in Proteine durch die Information des genetischen Codes geregelt ist, lassen sich auch nicht proteinogene über die beschriebenen Syntheseverfahren in Peptidsequenzen einbauen. Eine Aufzählung der proteinogenen Aminosäuren und deren Einteilung in die oben genannten drei Klassen ist in Tabelle 1 gegeben. Nicht-proteinogene Aminosäuren sind nicht genetisch codiert. Beispiele für nicht-proteinogene Aminosäuren und deren Einteilung in saure, basische oder neutrale Aminosäuren sind in Tabelle 1 gegeben.

Tabelle 1

	proteinogen	nicht proteinoge
sauer	Asp, Glu	
basisch	Arg, His, Lys	Dab, Dap, Orn
neutral	Ala, Asn, Cys, Gln, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val	ß-Ala, Aib, Cit, Cha, Oab, Mab, Pab, Amb, Ahx, Ahp, Aoc, Ade, Atd, Nal, Nle, Sar, Tic

Die Exendin Analoga, welche Gegenstand dieser Erfindung sind, besitzen vorteilhafte therapeutische Eigenschaften. So führen sie zu einer Stimulation der Insulinfreisetzung aus dem endokrinen Pankreas, zu einer Erhöhung der Insulinbiosynthese sowie zu einer vermehrten peripheren Glukose-Utilisation. Da diese Effekte nur bei gleichzeitig erhöhten Blutzuckerspiegeln zu beobachten sind, ist nach ihrer Verabreichung nicht mit dem Auftreten einer Hypoglykämie zu rechnen. Weiterhin hemmen die Exendin-Analoga die Glukagonfreisetzung aus dem endokrinen Pankreas und führen so zu einer Absenkung der Glukoneogenese. Die Exendin-Analoga führen beim nicht-insulinabhängigen Diabetes mellitus (NIDDM) zu einer deutlichen Verbesserung der Stoffwechselsituation. Insbesondere wird unabhängig von der Insulin-sekretorischen

Wirkung die Glukoseaufnahme in Muskel- und Fettgewebe gesteigert. Aufgrund der inhibitorischen Wirkung auf die Glukagonfreisetzung ist auch die Verabreichung der Exendin-Analoga beim insulinabhängigen Diabetes mellitus sinnvoll. Gegenüber Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) und den bekannten Exendin-3 und Exendin-4 Sequenzen besitzen die erfindungsgemäßen Exendin-Analoga eine überraschend höhere Wirksamkeit in den verschiedenen Testsystemen, so daß sie für eine therapeutische Anwendung besser geeignet sind als GLP-1, Exendin-3 oder Exendin-4. Die Vorteile der neuen Exendin-Analoga sind insbesondere die folgenden: höhere Stabilität gegenüber Abbau und Metabolisierung, längere Wirkdauer, Wirksamkeit bei niedrigeren Dosen. Besondere bevorzugt sind Analoga auf Basis von Exendin-3, die besonders lange Wirkdauern oder Wirksamkeit bei besonders niedriger Dosis zeigen.

Die Festphasen- und Flüssigphasensynthese ist ein übliches Verfahren zur Herstellung von Peptiden. Um das Verfahren für die Herstellung eines bestimmten Produktes im Hinblick auf die Reinheit des Rohproduktes und die Ausbeute zu optimieren, ist es erforderlich, die Prozeßparameter und die verwendeten Materialien, beispielsweise das Trägermaterial, die Reagenzien, welche Gruppen zur Reaktion bringen sollen, die Materialien für das Blockieren der Gruppen, welche nicht reagieren sollen, oder die Reagenzien, welche blockierende Materialien abspalten, an das herzustellende Produkt, an die herzustellenden Zwischenprodukte bzw. Ausgangsmaterialien anzupassen. Diese Anpassung ist angesichts der Interpendenz der vielen Verfahrensparameter nicht einfach.

Arzneimittel, welche die erfindungsgemäßen Peptide einzeln oder zusammen als aktiven Wirkstoff neben üblichen Hilfs-und Zusatzstoffen enthalten, werden vorzugsweise parenteral (subcutan, intramuskulär oder intravenös) verabreicht. In Frage kommen aber auch alle sonst üblichen Applikationsverfahren wie oral, rectal, buccal (einschließlich sublingual), pulmonal, transdermal, iontophoretisch, vaginal und intranasal. Das Arzneimittel hat eine insulinregulierende Wirkung und fördert dabei in vorteilhafter Weise den Ausgleich des Blutzuckerspiegels. Vorteilhaft für die Anwendung des Arzneimittels ist es, wenn Blutspiegel zwischen 20 und 50 pmol/l erreicht werden. Dazu sind Infusionsraten von 0,4 - 1,2 pmol/kg/Min. erforderlich. Bei subcutaner bzw buccaler

Applikation sind je nach galenischer Form und angestrebter Wirkdauer Substanzmengen von 5 - 500 nmol erforderlich.

Die erfindungsgemäßen Exendin-Analoga oder pharmakologisch verträglichen Salze hiervon werden vorzugsweise als sterile Lyophilisate gelagert und vor der Applikation mit einer geeigneten isotonischen Lösung vermischt. In dieser Form können die Analoga dann injiziert, infundiert oder gegebenenfalls auch durch die Schleimhäute absorbiert werden. Als Lösungsmittel können die üblichen, für die Injektion oder Infusion geeigneten isotonischen, wässrigen Systeme, die die bei Injektionslösungen üblichen Zusätze wie Stabilisierungsmittel und Lösungsvermittler enthalten, verwendet werden. Physiologische Kochsalzlösung oder gegebenenfalls durch Puffer isotonisch gestellte Lösungen werden in diesem Fall bevorzugt.

Zusätze sind z. B. Tartrat- oder Citratpuffer, Ethanol, Komplexbildner (wie Ethylendianmintetraessigsäure und deren nichttoxischen Salze), hochmolekulare Polymere (wie flüssiges Polyethylenoxid) zur Viskositätsregelung. Flüssige Trägerstoffe für Injektionslösungen müssen steril sein und werden vorzugsweise in Ampullen abgefüllt. Feste Trägerstoffe sind z. B. Stärke, Lactose, Mannit, Methylcellulose, Talkum, hochdisperse Kieselsäuren, höhermolekulare Fettsäuren (wie Stearinsäure), Gelantine, Agar-Agar, Calciumphosphat, Magnesiumstearat, tierische und pflanzliche Fette, feste hochmolekulare Polymere (wie Polyethylenglykol); für orale Applikation geeignete Zubereiteungen können falls gewünscht Geschmacks- und Süßstoffe enthalten. Für die nasale Applikation können Surfactants zur Verbesserung der Absorption durch die nasale Schleimhaut zugesetzt werden, z. B. Cholsäure, Taurocholsäure, Chenodeoxycholsäure, Glykolsäure, Dehydrocholsäure, Deoxycholsäure und Cyclodextrine.

Die zu verabreichende Tagesdosis liegt im Bereich von 150-500 nmol. Die Bestimmung der biologischen Aktivität basiert auf Messungen gegen internationale Referenzpräparationen für Glucagon-like peptide-1, Exendin-3 oder Exendin-4 in einem gebräuchlichen Testverfahren für Glucagon-like peptide-1.

Die erfindungsgemäßen Exendin-Analoga können nach den in der Peptidsynthese üblichen Verfahren hergestellt werden, wie sie z. B. in J. M. Steward und J. D. Young "Solid Phase Peptide Synthesis", 2nd ed., Pierce Chemical Co., Rockford, Illinois (1984) und J. Meienhofer "Hormonal Proteins and Peptides", Vol. 2, Academic Press, New York, (1973) für die Festphasensynthese und in E. Schroder und K. Lubke "The Peptides", Vol.1, Academic Press, New York, (1965) für die Flüssigphasensynthese beschrieben worden sind.

Allgemeine Verfahren zur Peptidsynthese

Im allgemeinen werden bei der Synthese von Peptiden geschützte Aminosäuren zu einer wachsenden Peptidkette addiert. Die erste Aminosäure ist entweder an der Aminogruppe oder der Carboxylgruppe sowie an jeglicher reaktiver Gruppe in der Seitenkette geschützt. Diese geschützte Aminosäure wird entweder an einen inerten Träger gekoppelt oder kann auch in Lösung eingesetzt werden. Die nächste Aminosäure in der Peptidsequenz wird passend geschützt unter Bedingungen, welche die Ausbildung einer Amidbindung begünstigen, zu der ersten gegeben. Nachdem alle gewünschten Aminosäuren in der richtigen sequentiellen Abfolge gekuppelt wurden, werden die Schutzgruppen und gegebenenfalls die Trägerphase abgespalten. Das erhaltene rohe Polypeptid wird umgefällt und vorzugsweise chromatographisch zum Endprodukt gereinigt.

Eine bevorzugte Methode zur Darstellung von Analoga physiologisch aktiver Polypeptide, mit weniger als etwa vierzig Aminosäuren, beinhaltet die Festphasenpeptidsynthese. Bei dieser Methode werden die α-Aminofunktionen (N^{α}) und jegliche reaktive Seitenketten mit säure- oder basenlabilen Gruppen geschützt. Die verwendeten Schutzgruppen sollten unter den Bedingungen der Knüpfung von Amidbindungen stabil sein, aber sich leicht abspalten lassen ohne die entstandene Polypeptidkette zu beeinträchtigen. Zu den geeigneten Schutzgruppen für die α-Aminofunktion gehören die folgenden Gruppen, sind aber nicht auf diese limitiert: t-

Butyloxycarbonyl (Boc), Benzyloxycarbonyl (Z), o-Chlorbenzyloxycarbonyl, Biphenylisopropyloxycarbonyl, *tert.*-Amyloxycarbonyl (Amoc), α,α-Dimetyl-3,5-dimethoxybenzyloxycarbonyl, o-Nitrosulfenyl, 2-Cyano-t-butoxycarbonyl, 9-Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc), 1-(4,4-dimethyl-2,6-dioxocylohex-1-yliden)ethyl (Dde) und ähnliche. Vorzugsweise wird 9-Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) als N^{α}-Schutzgruppen eingesetzt.

Zu den geeigneten Seitenkettenschutzgruppen gehören die folgenden, sind aber nicht auf diese limitiert: Acetyl, Allyl (All), Allyloxycarbonyl (Alloc), Benzyl (Bzl), Benzyloxycarbonyl (Z), t-Butyloxycarbonyl (Boc), Benzyloxymethyl (Bom), o-Brombenzyloxycarbonyl, t-Butyl (tBu), t-Butyldimethylsilyl, 2-Chlorbenzyl, 2-Chlorbenzyloxycarbonyl (2-ClZ), 2,6-Dichlorbenzyl, Cyclohexyl, Cyclopentyl, 1-(4,4-dimethyl-2,6-dioxocylohex-1-yliden)ethyl (Dde), Isopropyl, 4-Methoxy-2,3,6-trimethylbenzyl-sulfonyl (Mtr), 2,2,5,7,8 Pentamethylchroman-6-sulfonyl (Pmc), Pivalyl, Tetrahydropyran-2-yl, Tosyl (Tos), 2,4,6-Trimethoxybenzyl, Trimethylsilyl und Trityl (Trt).

Bei der Festphasensynthese wird die C-terminale Amionosäure als erste an ein geeignetes Trägermaterial gekuppelt. Geeignete Trägermaterialien sind solche, die inert gegen die Reagenzien und die Reaktionsbedingungen der schrittweisen Kondensations- und Abspaltungsraktionen sind, und welche sich nicht in den benützten Reaktionsmedien lösen. Beispiele für kommerziell erhältliche Trägermaterialien beinhalten Styrol/Divinylbenzol Copolymerisate, welche mit reaktiven Gruppen und/oder Polyethylenglykol modifiziert wurden, so auch chlormethyliertes Styrol/Divinylbenzol Copolymer, hydroxy- oder aminomethyliertes Styrol/Divinylbenzol Copolymer und ähnliche. Mit 4-Benzyloxybenzylalkohol (Wang-Anker (Wang, S. S. 1973)) oder 2-Chlortritylchlorid (Barlos, K. et. al. 1989) derivatisiertes Polystyrol(1%)divinylbenzol oder TentaGel® (Rapp Polymere, Tübingen) wird bevorzugt eingesetzt, falls die Peptidsäure dargestellt werden soll. Handelt es sich um das Peptidamid, so wird das mit 5-(4'-aminomethyl)-3',5'-dimeth xy-phenoxy)valeriansäure (PAL-Anker) (Albericio, F. et. al. 1987) oder der p-(2,4-Dimethoxyphenyl-aminomethyl)-phenoxy-Gruppe (Rink-

Amid-Anker (Rink, H. 1987)) derivatisiertes Polystyrol(1%)divinylbenzol oder TentaGel® bevorzugt.

Die Anknüpfung an die polymeren Träger kann durch Reaktion der C-terminalen Fmoc-geschützten Aminosäure, unter Zusatz eines Aktivierungsreagenzes, in Ethanol, Acetonitril, N,N-Dimethylformamid (DMF), Dichlormethan, Tetrahydrofuran, N-Methylpyrrolidon oder ähnlichen Solventien, vorzugsweise in DMF, mit dem Trägermaterial bei Raumtemperatur oder erhöhten Temperaturen, z.B. zwischen 40°C und 60°C, vorzugsweise bei Raumtemperatur, und Reaktionszeiten von 2 bis 72 Stunden, vorzugsweise etwa 2 x 2 Stunden, erreicht werden.

Die Kupplung der N^{α}-geschützten Aminosäure, vorzugsweise der Fmoc-Aminosäure, an das PAL-, Wang- oder Rink-Anker kann beispielsweise mit Hilfe von Kupplungsreagenzien wie N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC), N,N'-Diisopropylcarbodiimid (DIC) oder anderen Carbodiimiden, 2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium tetrafluoroborat (TBTU) oder anderen Uronium-Salzen, O-Acyl-Harnstoffen, Benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphat (PyBOP) oder anderen Phosphonium-Salzen, N-hydroxysuccinimiden, anderen N-Hydroxyimiden, oder Oximen, in Gegenwart oder auch in Abwesenheit von 1-Hydroxybenzotriazol oder 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol, vorzugsweise mit Hilfe von TBTU unter Zusatz von HOBt, mit oder ohne Zusatz einer Base wie beispielsweise Diisopropylethylamin (DIEA), Triethylamin oder N-Methylmorpholin, vorzugsweise Diisopropylethylamin, bei Reaktionszeiten von 2 bis 72 Stunden, vorzugsweise 3 Stunden, in einem 1,5 bis 3 fachem Überschuß der Aminosäure und der Kupplungsreagenzien, vorzugsweise in einem 2fachen Überschuß und Temperaturen zwischen etwa 10°C und 50°C, vorzugsweise bei 25°C, in einem Lösungsmittel wie Dimethylformamid, N-Methylpyrrolidon oder Dichlormethan, vorzugsweise Dimethylformamid, durchgeführt werden. Anstelle der Kupplungseagenzien kann auch der Aktivester (z.B. Pentafluorphenyl, p-Nitrophenyl oder ähnliche), das symmetrische Anhydrid der N^{α}-Fmoc-Aminosäure, deren

Säurechlorid oder -fluorid unter den oben beschriebenen Bedingungen eingesetzt werden.

Die Kupplung der N^{α}-geschützten Aminosäure, vorzugsweise der Fmoc-Aminosäure, an das 2-Chlortrityl-Harz wird bevorzugt in Dichlormethan unter Zusatz von DIEA, bei Reaktionszeiten von 10 bis 120 Minuten, vorzugsweise 20 Minuten, durchgeführt, ist aber nicht auf die Verwendung dieses Lösungsmittels und dieser Base beschränkt.

Die sukzessive Kupplung der geschützten Aminosäuren kann nach den in der Peptidsynthese üblichen Verfahren typischerweise in einem Peptidsyntheseautomaten durchgeführt werden. Nach Abspaltung der N^{α}-Fmoc-Schutzgruppe der gekuppelten Aminosäure auf der Festphase durch Behandlung mit Piperidin (10% bis 50%) in Dimethylformamid für 5 bis 20 Minuten, vorzugsweise 2×2 Minuten mit 50% Piperidin in DMF und 1× 15 Minuten mit 20% Piperidin in DMF, wird die nächste geschützte Aminosäure in einem 3 bis 10 fachem Überschuß, vorzugsweise in einem 10fachen Überschuß, in einem inerten, nichtwässrigen, polaren Lösungsmittel, wie Dichlormethan, DMF oder Mischungen aus beiden, vorzugsweise DMF, und Temperaturen zwischen etwa 10°C und 50°C, vorzugsweise bei 25°C, an die vorhergehende gekoppelt. Als Kupplungsreagenzien kommen die bei der Kupplung der ersten N^{α}-Fmoc-Aminosäure an den PAL-, Wang- bzw. Rink-Anker bereits erwähnten Reagenzien in Frage. Wiederum können alternativ auch Aktivester der geschützten Aminosäure deren Chloride oder Fluoride oder deren symmetrische Anhydride verwendet werden.

Am Ende der Festphasensynthese wird das Peptid vom Trägermaterial abgespalten unter gleichzeitiger Abspaltung der Seitenkettenschutzgruppen. Die Abspaltung kann mit Trifluoressigsäure oder anderen stark sauren Medien unter Zusatz von 5% - 20% v/v Scavengern wie Dimethylsulfid, Ethylmethylsulfid, Thioanisol, Thiokresol, m-Kresol, Anisol Ethandithiol, Phenol oder Wasser, vorzugsweise 15% v/v Dimethylsulfid/ Ethandithiol/ m-Kresol 1.1:1, innerhalb von 0,5 bis 3 Stunden, vorzugsweise 2 Stunden, erfolgen. In den Seitenkettten vollgeschützte Peptide werden durch Spaltung des 2-

Chlortritylankers mit Eis-essig/Trifluorethanol/Dichlormethan 2:2:6 erhalten. Das geschützte Peptid kann durch Chromatographie über Silicagel gereinigt werden. Ist das Peptid über den Wang-Anker mit der Festphase verbunden, und soll ein Peptid mit C-terminaler Alkylamidierung erhalten werden, so kann die Abspaltung über eine Aminolyse mit einem Alkylamin oder Fluoroalkylamin durchgeführt werden. Die Aminolyse wird bei Temperaturen zwischen etwa -10°C und 50°C, vorzugsweise etwa 25°C, und Reaktionszeiten zwischen etwa 12 und 24 Stunden, vorzugsweise etwa 18 Stunden, durchgeführt. Weiterhin kann das Peptid auch durch Umesterung , z. B. mit Methanol, vom Träger gespalten werden.

Die erhaltene saure Lösung wird mit der 3- 20 fachen Menge an kaltem Ether oder n-Hexan, vorzugsweise einem 10fachen Überschuß Diethylether versetzt, um das Peptid auszufällen und damit von den im Ether verbleibenden Scavengern und abgespaltenen Schutzgruppen abzutrennen. Eine weitere Reinigung kann durch mehrfaches Umfällen des Peptides aus Eis-essig erfolgen. Das erhaltene Precipitat wird in Wasser oder tert.Butanol oder Mischungen der beiden Lösungsmittel, vorzugsweise einer 1:1 Mischung von tert.Butanol/Wasser, aufgenommen und gefriergetrocknet.

Das erhaltene Peptid kann durch einzelne oder alle der folgenden chromatographischen Methoden gereinigt werden: Ionenaustausch über ein schwach basisches Harz in der Acetat Form; hydrophobe Adsorptionschromatographie an nicht derivatisierten Polystyrol/Divinylbenzol-Copolymeren (z.B. Amberlite® XAD); Adsorptionschromatographie an Silicagel; Ionenaustauschchromatographie an Carboxymethylcellulose; Verteilungschromatographie, z.B. an Sephadex® G-25; Gegenstromverteilungschromatographie; oder Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC), insbesondere "reversed-phase" HPLC an Octyl- oder Octadecylsilylsilica (ODS) -Phasen.

Zusammenfassend beinhaltet ein Teil der vorliegenden Erfindung Verfahren zur Darstellung von Polypeptiden, und deren pharmazeutisch verwendbaren Salzen. Diese Verfahren, welche zu physiologisch aktiven verkürzten Homologen und Analogen von

Exendin-3 oder Exendin-4, mit den oben erwähnten bevorzugten Kettenlängen und Modifikationen führen, setzen sich aus Verfahren zur sequentiellen Kondensation geschützter Aminosäuren auf einem geeigneten Trägermaterial, zur Abspaltung des Trägers und der Schutzgruppen, und zur Reinigung der erhaltenen Rohpeptide zusammen.

Die Aminosäurenanalyse wurde mit einem Aminosäurenanalysator 420A der Firma Applied Biosystems (Weiterstadt) durchgeführt. 50 bis 1000 pmol der zu analysierenden Probe wurden in 10 bis 40 µl Lösung auf den Probenträger aufgetragen und anschließend vollautomatisch in der Gasphase bei 160°C mit 6N Salzsäure 90 Minuten hydrolysiert, mit Phenylisothiocyanat derivatisiert und on-line über eine Microbore-HPLC analysiert. Massenspektroskopische Untersuchungen wurden wurden an einem API III Triple-Quadrupol-Massenspektrometer (SCIEX, Thornhill, Kanada) ausgerüstet mit Ionenspray Ionenquelle durchgeführt.

Die geschützten Aminosäurenderivate können z.B. von der Novabiochem GmbH (Bad Soden) bezogen werden.

Die folgenden Beispiele stellen nur eine illustrierende Auswahl des Erfindungsgedanken dar und keine Einschränkung des Erfindungsgegenstandes.

Beispiel 1

HGEGTFTSDLSKQ-Nle-EEEAVRLFIEWLKNGR-NH_2 (SEQ ID Nr. 3)

[Nle^{14}, Arg^{30}]-Exendin-4-(1-30)-NH_2

Beispiel 1 wurde in einem 0,02 mmol Ansatz nach der Festphasenmethode auf 5-(4'-aminomethyl)-3',5'-dimethoxyphenoxy)valerianyl-alanyl-aminomethyl-polystyrol(1%)divinylbenzol (Beladung: 0,5 mmol/g) auf einem Multiplen Peptidsyntheseautomaten SyRo II der Firma MultiSynTech (Bochum) synthestisiert. Die α-Aminofunktionen der Aminosäuren waren 9-Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) geschützt. Als Seitenkettenschutzgruppen wurden t-Butyl (tBu) für Asp, Glu, Ser und Thr, Trityl (Trt) für Asn, Gln und His, t-Butyloxycarbonyl (Boc) für Lys und Trp und 2,2,5,7,8-Pentamethylchroman-6-sulfonyl (Pmc) für Arg eingesetzt. Die sequentielle Kupplung der geschützten Aminosäuren erfolgte in 10fachem Überschuß mit Doppelkupplungen von 2 mal 40 Minuten Dauer und mit N,N-Diisopropylcarbodiimid/1-Hydroxybenzotriazol als Aktivierungsreagenzien. Die Abspaltung des Peptides vom polymeren Träger unter gleichzeitiger Abspaltung der Schutzgruppen erfolgte in Trifluoressigsäure (85%) in Gegenwart von 15% Ethandithiol/Dimethylsulfid/m-Kresol (1:1:1 v/v/v) für 120 Minuten bei Raumtemperatur. Anschließend wurde das Peptid mit wasserfreiem Diethylether gefällt und zur vollständigen Entfernung der Thiole noch mehrfach mit wasserfreiem Diethyl-ether gewaschen. Gefriertrocknung des Precipitats aus Wasser/tert.-Butanol (1:1) ergab 62 mg des Rohpeptides. Das Rohpeptid wurde über reversed-phase HPLC mit einem Gradienten von 37% auf 42% Acetonitril/0,9% TFA in 30 Minuten gereinigt. Das Eluat wurde eingeengt, lyophilisiert und ergab eine Ausbeute von 29 mg eines weißen Feststoffes mit einer Reinheit von ≥ 97%.

Aminosäurenanalyse: Ala 1,08 (1); Asx 1,91 (2); Glx 6,10 (6); Phe 1,78 (2); Gly 3,10 (3); His 1,00 (1); Ile 0,88 (1); Lys 2,02 (2); Leu 3,24 (3); Nle 1,10 (1); Arg 1,98 (2); Ser 2,04 (2); Thr 1,99 (2); Val 0,91 (1); Trp 0,87 (1).

ESI-MS: 3488,2

Beispiel 2

HGEGTFTSDLSKQ-Nle-EEEAVRLFIEWLKNGY-NH_2 (SEQ ID Nr. 4)

[Nle^{14}, Tyr^{30}]-Exendin-4-(1-30)-NH_2

Beispiel 2 wurde in einem 0,0076 mmol Ansatz nach der Festphasenmethode auf TentaGel® (Rapp Polymere, Tübingen) synthetisiert, welches mit dem Rink-Amid-Anker (4-(2',4'-Dimethoxyphenyl-aminomethyl)-phenoxy-Gruppe) derivatisiert war (Beladung: 0,18 mmol/g) auf einem Multiplen Peptidsyntheseautomaten SyRo II der Firma MultiSynTech (Bochum) synthetisiert. Die eingesetzten geschützten Aminosäuren waren analog zu Beispiel 1. Die sequentielle Kupplung der geschützten Aminosäuren erfolgte in 8fachem Überschuß mit Einfachkupplungen von 40 Minuten Dauer, bei 40°C und unter Rühren. Als Aktivierungsreagenzien wurden 2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium tetrafluoroborat (TBTU)/1-Hydroxybenzotriazol unter Zusatz von Diisopropylethylamin verwendet. Die Abspaltung und Aufreinigung des Peptides erfolgte analog zu Beispiel 1. Es wurden 18,1 mg eines weißen Feststoffes mit einer Reinheit von ≥ 95% erhalten.

Aminosäurenanalyse: Ala 1,03 (1); Asx 1,90 (2); Glx 6,24 (6); Phe 1,94 (2); Gly 3,12 (3); His 1,02 (1); Ile 1,09 (1); Lys 2,01 (2); Leu 3,06 (3); Nle 1,08 (1); Arg 0,97 (1); Ser 1,98 (2); Thr 1,80 (2); Val 0,93 (1); Trp 1,01 (1); Tyr 0,90 (1).

ESI-MS: 3494,8

Beispiel 3

HSDGTFTSDLSKQ-Nle-EEEAVRLFIEWLKNGR-NH_2 (SEQ ID Nr. 5)

[Nle^{14}, Arg^{30}]-Exendin-3-(1-30)-NH_2

Beispiel 3 wurde analog nach der für Beispiel 2 beschriebenen Methode synthetisiert. Es wurden 17,6 mg eines weißen Feststoffes mit einer Reinheit von ≥ 99% erhalten.

Aminosäurenanalyse: Ala 0,99 (1); Asx 2,98 (3); Glx 5,16 (5); Phe 2,08 (2); Gly 2,16 (2); His 0,95 (1); Ile 1,03 (1); Lys 2,04 (2); Leu 2,91 (3); Nle 1,05 (1); Arg 1,04 (1); Ser 3,00 (3); Thr 2,05 (2); Val 1,01 (1); Trp 1,18 (1); Tyr 0,98 (1).

ESI-MS: 3504,4

Beispiel 4

HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGR-NH_2 (SEQ ID Nr. 6)

[Arg^{30}]-Exendin-4-(1-30)-NH_2

Beispiel 4 wurde analog nach der für Beispiel 1 beschriebenen Methode synthetisiert. Es wurden 17,9 mg eines weißen Feststoffes mit einer Reinheit von ≥ 96% erhalten.

Aminosäurenanalyse: Ala 0,96 (1); Asx 2,01 (2); Glx 6,00 (6); Phe 1,80 (2); Gly 3,21 (3); His 0,96 (1); Ile 1,07 (1); Lys 1,92 (2); Leu 2,98 (3); Met 1,06 (1); Arg 1,90 (2); Ser 1,91 (2); Thr 2,09 (2); Val 0,97 (1); Trp 0,84 (1).

ESI-MS: 3508,4

Beispiel 5

GEGTFTSDLSKQ-Nle-EEEAVRLFIEWLKNGR-NH_2 (SEQ ID Nr. 7)

[Nle^{14}, Arg^{30}]-Exendin-4-(2-30)-NH_2

Beispiel 5 wurde analog nach der für Beispiel 2 beschriebenen Methode synthetisiert. Es wurden 13,2 mg eines weißen Feststoffes mit einer Reinheit von ≥ 97% erhalten.

Aminosäurenanalyse: Ala 1,04 (1); Asx 1,98 (2); Glx 6,08 (6); Phe 1,86 (2); Gly 2,91 (3); Ile 0,96 (1); Lys 1,84 (2); Leu 2,98 (3); Nle 1,04 (1); Arg 1,90 (2); Ser 1,94 (2); Thr 1,92 (2); Val 0,96 (1); Trp 0,85 (1).

ESI-MS: 3350,8

Beispiel 6

HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRAFIEWLKNGR-NH_2 (SEQ ID Nr. 8)

[Ala^{21}, Arg^{30}]-Exendin-4-(1-30)-NH_2

Beispiel 6 wurde analog nach der für Beispiel 1 beschriebenen Methode synthetisiert. Es wurden 11,1 mg eines weißen Feststoffes mit einer Reinheit von ≥ 95% erhalten.

Aminosäurenanalyse: Ala 2,08 (2); Asx 1,93 (2); Glx 6,07 (6); Phe 1,74 (2); Gly 2,97 (3); His 0,98 (1); Ile 0,87 (1); Lys 2,15 (2); Leu 2,02 (2); Met 0,96 (1); Arg 2,13 (2); Ser 1,87 (2); Thr 2,07 (2); Val 1,04 (1); Trp 0,87 (1).

ESI-MS: 3466,3

Beispiel 7

HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKAGR-NH_2 (SEQ ID Nr. 9)

[Ala^{28}, Arg^{30}]-Exendin-4-(1-30)-NH_2

Beispiel 7 wurde analog nach der für Beispiel 1 beschriebenen Methode synthetisiert. Es wurden 15,0 mg eines weißen Feststoffes mit einer Reinheit von ≥ 97% erhalten.

Aminosäurenanalyse: Ala 1,98 (2); Asx 0,98 (1); Glx 6,22 (6); Phe 1,92 (2); Gly 3,03 (3); His 0,99 (1); Ile 1,03 (1); Lys 2,05 (2); Leu 3,03 (3); Met 0,96 (1); Arg 1,84 (2); Ser 1,98 (2); Thr 2,09 (2); Val 1,01 (1); Trp 0,72 (1).

ESI-MS: 3465,4

Beispiel 8

HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRAFIEWLKAGR-NH_2 (SEQ ID Nr. 10)

[$Ala^{21,28}$, Arg^{30}]-Exendin-4-(1-30)-NH_2

Beispiel 8 wurde analog nach der für Beispiel 1 beschriebenen Methode synthetisiert. Es wurden 18,4 mg eines weißen Feststoffes mit einer Reinheit von ≥ 95% erhalten.

Aminosäurenanalyse: Ala 3,12 (3); Asx 0,99 (1); Glx 6,04 (6); Phe 1,80 (2); Gly 3,00 (3); His 0,96 (1); Ile 1,02 (1); Lys 1,84 (2); Leu 1,97 (2); Met 0,98 (1); Arg 2,03 (2); Ser 1,91 (2); Thr 1,88 (2); Val 0,99 (1); Trp 0,99 (1).

ESI-MS: 3423,3

Beispiel 9

In analoger Weise können die folgenden Exendinderivate in hoher Reinheit hergestellt werden.

(Ex-4 = Exendin-4, Ex-3 = Exendin-3)

Exendin-Derivat	**Seq.**	**Sequenz**
$[A^{14},R^{30}]$-Ex-4-(1-30)-OH	11	HGEGTFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-OH
Ac-$[Ile^{14},R^{30}]$-Ex-4-(1-30)-NH_2	12	**Ac-** HGEGTFTSDLSKQIleEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
$[Nle^{14}]$-Ex-4-(1-27)-NH_2	13	HGEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL K-NH_2
$[A^{14,29},R^{30}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	14	HSDGTFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NAR-NH_2
$[A^{14,27},R^{30}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	15	HSDGTFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLA NGR-NH_2
$[A^{14,26},R^{30}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	16	HSDGTFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWAK NGR-NH_2
$[A^2, Nle^{14},R^{30}]$-Ex-4-(1-30)-NH_2	17	HAEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
$[C^2, Nle^{14},R^{30}]$-Ex-4-(1-30)-NH_2	18	HCEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
$[D^2, Nle^{14},R^{30}]$-Ex-4-(1-30)-NH_2	19	HDEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
$[E^2, Nle^{14},R^{30}]$-Ex-4-(1-30)-NH_2	20	HEEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
$[F^2, Nle^{14},R^{30}]$-Ex-4-(1-30)-NH_2	21	HFEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
$[H^2\ Nle^{14},R^{30}]$-Ex-4-(1-30)-NH_2	22	HHEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2

[I^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	23	HIEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[K^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	24	HKEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[L^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	25	HLEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[M^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	26	HMEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[N^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	27	HNEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[P^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	28	HPEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[Q^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	29	HQEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[R^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	30	HREGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[S^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	31	HSEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[T^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	32	HTEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[V^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	33	HVEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[W^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	34	HWEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[Y^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	35	HYEGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[$A^{2,24}$,G^{16},E^{21},$K^{20,28}$,Q^{17},R^{30},S^{12}, V^{27},Y^{13}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	36	HADGTFTSDLSSYMEGQAVKEFIAWL VKGR-NH_2
[$A^{14,25}$,R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	37	HSDGTFTSDLSKQAEEEAVRLFIEALKN GR-NH_2

[E^3, A^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	38	HSEGTFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLKN GR-NH_2
[A^1, V^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	39	ASDGTFTSDLSKQVEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[$A^{3,14}$,R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	40	HGAGTFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[$A^{5,14}$,R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	41	HGEGAFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[A^{14},R^{30},Y^5]-Ex-4-(1-30)-NH_2	42	HGEGYFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[A^{14},R^{30},Y^6]-Ex-4-(1-30)-NH_2	43	HGEGTYTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[A^{14},I^6,R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	44	HGEGTITSDLSKQAEEEAVRLFIEWLKN GR-NH_2
[A^{14},R^{30},S^7]-Ex-4-(1-30)-NH_2	45	HGEGTFSSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[A^{14},R^{30},Y^7]-Ex-4-(1-30)-NH_2	46	HGEGTFYSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[A^{14},R^{30},T^8]-Ex-4-(1-30)-NH_2	47	HGEGTFTTDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[A^{14},R^{30},Y^8]-Ex-4-(1-30)-NH_2	48	HGEGTFTYDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[A^{14},E^9,R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	49	HGEGTFTSELSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[$A^{10,14}$,R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	50	HGEGTFTSDASKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[$A^{11,14}$,R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	51	HGEGTFTSDLAKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[$A^{12,14}$,R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	52	HGEGTFTSDLSAQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[$A^{13,14}$,R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	53	HGEGTFTSDLSKAAEEEAVRLFIEWLK

		NGR-NH_2
[$A^{14,15}$,R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	54	HGEGTFTSDLSKQAAEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[$A^{14,16}$,G^{1},R^{30},S^{5}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	55	GSDGSFTSDLSKQAEAEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[$A^{14,17}$,K^{1},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	56	KGEGTFTSDLSKQAEEAAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[A^{14},L^{18},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	57	HGEGTFTSDLSKQAEEELVRLFIEWLK NGR-NH_2
[A^{14},I^{19},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	58	HGEGTFTSDLSKQAEEEAIRLFIEWLKN GR-NH_2
[$A^{14,20}$,R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	59	HGEGTFTSDLSKQAEEEAVALFIEWLK NGR-NH_2
[A^{14},R^{30},Y^{22}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	60	HSDGTFTSDLSKQAEEEAVRLYIEWLK NGR-NH_2
[A^{14},R^{30},V^{23}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	61	HGEGTFTSDLSKQAEEEAVRLFVEWLK NGR-NH_2
[A^{14},L^{24},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	62	HGEGTFTSDLSKQAEEEAVRLFILWLK NGR-NH_2
[$A^{14,25}$,R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	63	HGEGTFTSDLSKQAEEEAVRLFIEALKN GR-NH_2
[$A^{14,26}$,R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	64	HGEGTFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWAK NGR-NH_2
[$A^{14,27}$,R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	65	HGEGTFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLA NGR-NH_2
[$A^{14,29}$,R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	66	HGEGTFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NAR-NH_2
[A^{14},R^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2	67	HGEGTFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	68	HSDGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[Nle^{14}, Y^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	69	HSDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGY-NH_2

[Nle^{14}, R^{30}]-Ex-3-(1-30)-OH	70	HSDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-OH
[A^{14}, R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	71	HSDGTFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[Nle^{14}, R^{30}]-Ex-3-(2-30)-NH_2	72	SDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[Nle^{14}, R^{30}]-Ex-3-(3-30)-NH_2	73	DGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWLKN GR-NH_2
Ac-[Nle^{14}, R^{30}]-Ex-3-(2-30)-NH_2	74	Ac-SDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
Ac-[Nle^{14}, R^{30}]-Ex-3-(3-30)-NH_2	75	Ac-DGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWLKN GR-NH_2
[Nle^{14}]-Ex-3-(1-27)-NH_2	76	HSDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL K-NH_2
[K^2,P^3, A^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	77	HKPGTFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[A^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	78	HADGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[C^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	79	HCDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[D^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	80	HDDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[E^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	81	HEDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[F^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	82	HFDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[G^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	83	HGDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[H^2 Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	84	HHDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[I^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	85	HIDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWLK

		NGR-NH_2
[K^2, Nle14,R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	86	HKDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[L^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	87	HLDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[M^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	88	HMDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[N^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	89	HNDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[P^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	90	HPDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[Q^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	91	HQDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[R^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	92	HRDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[T^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	93	HTDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[V^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	94	HVDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[W^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	95	HWDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[Y^2, Nle^{14},R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	96	HYDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2
[$A^{3,14}$,R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	97	HSAGTFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[$A^{5,14}$,R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	98	HSDGAFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[A^{14},R^{30},Y^5]-Ex-3-(1-30)-NH_2	99	HSDGYFTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[A^{14},R^{30},Y^6]-Ex-3-(1-30)-NH_2	100	HSDGTYTSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
[A^{14},I^6,R^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	101	HSDGTITSDLSKQAEEEAVRLFIEWLKN GR-NH_2

$[A^{14},R^{30},S^{7}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	102	HSDGTFSSDLSKQAEEEAVRLFIEWLKN GR-NH_2
$[A^{14},R^{30},Y^{7}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	103	HSDGTFYSDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
$[A^{14},R^{30},T^{8}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	104	HSDGTFTTDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
$[A^{14},R^{30},Y^{8}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	105	HSDGTFTYDLSKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
$[A^{14},E^{9},R^{30}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	106	HSDGTFTSELSKQAEEEAVRLFIEWLKN GR-NH_2
$[A^{10,14},R^{30}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	107	HSDGTFTSDASKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
$[A^{11,14},R^{30}]$-Ex-3(1-30)-NH_2	108	HSDGTFTSDLAKQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
$[A^{12,14},R^{30}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	109	HGEGTFTSDLSAQAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
$[A^{13,14},R^{30}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	110	HSDGTFTSDLSKAAEEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
$[A^{14,15},R^{30}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	111	HSDGTFTSDLSKQAAEEAVRLFIEWLK NGR-NH_2
$[A^{14,17},K^{1},R^{30}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	112	KSDGTFTSDLSKQAEEAAVRLFIEWLK NGR-NH_2
$[A^{14},L^{18},R^{30}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	113	HSDGTFTSDLSKQAEEELVRLFIEWLK NGR-NH_2
$[A^{14},I^{19},R^{30}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	114	HSDGTFTSDLSKQAEEEAIRLFIEWLKN GR-NH_2
$[A^{14,20},R^{30}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	115	HSDGTFTSDLSKQAEEEAVALFIEWLK NGR-NH_2
$[A^{14},R^{30},Y^{22}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	116	HSDGTFTSDLSKQAEEEAVRLYIEWLK NGR-NH_2
$[A^{14},R^{30},V^{23}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	117	HSDGTFTSDLSKQAEEEAVRLFVEWLK NGR-NH_2

$[A^{14},L^{24},R^{30}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	118	HSDGTFTSDLSKQAEEEAVRLFILWLK NGR-NH_2
Suc-$[Nle^{14}, R^{30}]$-Ex-3-(3-30)-NH_2	119	Suc-DGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWLKN GR-NH_2
$[Nle^{14}, R^{30}]$-Ex-3-(1-30)-NH_2	120	HSDGTFTSDLSKQNleEEEAVRLFIEWL KNGR-NH_2

Die folgenden Beispiele wurde in einem 0,02 mmol Ansatz nach der Festphasenmethode auf RAM-Harz® (Rapp Polymere, Tübingen) synthetisiert, bei dem Aminomethyl-polystyrol(1%)divinylbenzol mit dem Rink-Amid-Anker (4-(2',4'-Dimethoxyphenyl-aminomethyl)-phenoxy-Gruppe) derivatisiert ist (Beladung: 0,5 mmol/g). Die Synthesen wurden auf einem Multiplen Peptidsyntheseautomaten SyRo II der Firma MultiSynTech (Bochum) durchgeführt. Die eingesetzten geschützten Aminosäuren waren analog zu Beispiel 1. Die sequentielle Kupplung der geschützten Aminosäuren erfolgte in 5fachem Überschuß mit Einfachkupplungen von 40 Minuten Dauer, bei 40°C und unter Rühren. Als Aktivierungsreagenzien wurde 2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium tetrafluoroborat (TBTU) unter Zusatz von Diisopropylethylamin verwendet. Die Abspaltung und Aufreinigung des Peptides erfolgte analog zu Beispiel 1. In den folgenden beiden Tabellen sind die Ausbeuten, Reinheiten und Analysendaten der wie oben beschrieben synthetisierten Peptide aufgeführt.

Tabelle 1

Seq. ID	Ausbeute [mg]	Reinheit [%]	ESI-MS
36	6,0	99	3343,3
38	12,8	99	3477,4
68	14,2	99	3523,4
69	14,1	> 99	3512,1
70	18,0	95	3506,0
71	22,4	95	3463,6
72	6,6	> 99	3368,0
73	17,8	> 99	3281,1
75	12,0	99	3323,1
76	14,0	99	3178,1
77	7,2	99	3486,6
78	23,8	95	3488,1
79	19,0	95	3520,1
80	15,2	95	3531,9
81	8,6	> 99	3545,9

82	23,6	98	3563,9
83	25,4	95	3475,6
84	10,4	> 99	3554,1
85	8,2	> 99	3530,1
86	10,4	95	3545,3
87	9,2	> 99	3530,1
88	13,6	> 99	3548,1
89	10,6	> 99	3531,0
90	9,4	96	3514,9
91	6,0	> 99	3545,4
92	15,4	> 99	3574,9
93	10,1	> 99	3519,7
94	9,4	> 99	3517,7
95	12,0	> 99	3604,7
96	9,8	95	3581,8
120	8,5	95	3505,6

Tabelle 2

Aminosäurenanalysen

Seq. ID	Ala	Arg	Asx	Glx	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Nle	Phe	Ser	Thr	Trp	Val
36[a]	3,18 (3)	0,99 (1)	1,95 (2)	3,04 (3)	2,94 (3)	0,89 (1)	1,03 (1)	2,14 (2)	2,09 (2)		1,95 (2)	3,06 (3)	1,88 (2)	0,99 (1)	1,94 (2)
38	2,08 (2)	2,10 (2)	2,00 (2)	6,06 (6)	2,04 (2)	0,81 (1)	1,01 (1)	3,25 (3)	2,13 (2)		1,96 (2)	3,08 (3)	1,82 (2)	0,94 (1)	1,02 (1)
68[b]	1,02 (1)	2,14 (2)	3,16 (3)	5,06 (5)	1,71 (2)	0,93 (1)	1,02 (1)	3,21 (3)	2,08 (2)		1,93 (2)	3,00 (3)	1,88 (2)	0,98 (1)	1,02 (1)
69[c]	1,02 (1)	1,12 (1)	2,99 (3)	4,94 (5)	1,81 (2)	0,77 (1)	1,12 (1)	3,26 (3)	2,12 (2)	1,04 (1)	1,99 (2)	2,91 (3)	1,81 (2)	1,06 (1)	1,03 (1)
70	1,08 (1)	2,15 (2)	2,96 (3)	5,07 (5)	1,84 (2)	0,85 (1)	1,06 (1)	3,23 (3)	2,06 (2)	0,92 (1)	1,99 (2)	2,01 (3)	1,84 (2)	1,05 (1)	1,04 (1)
71	1,98 (2)	2,06 (2)	3,14 (3)	4,98 (5)	1,95 (2)	0,85 (1)	1,01 (1)	3,20 (3)	2,08 (2)		1,94 (2)	3,09 (3)	1,90 (2)	1,03 (1)	0,96 (1)
72	1,02 (1)	2,12 (2)	3,06 (3)	5,02 (5)	1,94 (2)		1,02 (1)	3,25 (3)	2,11 (2)	0,95 (1)	1,98 (2)	2,92 (3)	1,88 (2)	1,02 (1)	1,03 (1)

73	1,01 (1)	2,04 (2)	3,02 (3)	5,03 (5)	1,83 (2)		0,99 (1)	3,19 (3)	2,07 (2)	1,06 (1)	1,98 (2)	2,00 (2)	1,87 (2)	0,97 (1)	1,03 (1)
75	1,09 (1)	2,21 (2)	3,10 (3)	5,18 (5)	1,75 (2)		1,16 (1)	3,26 (3)	2,10 (2)	1,08 (1)	1,95 (2)	2,10 (2)	2,04 (2)	1,28 (1)	0,88 (1)
76	1,03 (1)	1,06 (1)	2,05 (2)	4,90 (5)	0,94 (1)	0,88 (1)	1,03 (1)	3,18 (3)	2,01 (2)	1,03 (1)	1,95 (2)	3,02 (3)	1,86 (2)	0,98 (1)	1,03 (1)
77[d]	2,07 (2)	2,00 (2)	2,10 (2)	5,07 (5)	1,78 (2)	0,93 (1)	1,01 (1)	3,14 (3)	3,12 (3)		1,93 (2)	2,05 (2)	1,93 (2)	1,01 (1)	1,01 (1)
78	2,11 (2)	2,17 (2)	3,14 (3)	5,01 (5)	1,92 (2)	0,90 (1)	1,06 (1)	3,25 (3)	2,06 (2)	1,05 (1)	1,99 (2)	2,06 (2)	1,90 (2)	1,00 (1)	1,05 (1)
79[e]	1,16 (1)	2,10 (2)	3,07 (3)	5,07 (5)	1,78 (2)	0,66 (1)	1,08 (1)	3,30 (3)	2,06 (2)	0,96 (1)	1,93 (2)	2,02 (2)	1,87 (2)	1,06 (1)	1,05 (1)
80	1,07 (1)	2,13 (2)	3,78 (4)	5,03 (5)	1,82 (2)	0,84 (1)	1,05 (1)	3,20 (3)	2,04 (2)	0,92 (1)	1,97 (2)	1,99 (2)	1,82 (2)	1,05 (1)	1,03 (1)
81	1,04 (1)	2,06 (2)	3,08 (3)	5,96 (6)	2,01 (2)	0,82 (1)	1,02 (1)	3,17 (3)	2,08 (2)	0,95 (1)	2,04 (2)	2,05 (2)	1,89 (2)	1,01 (1)	0,96 (1)
82	1,09 (1)	1,96 (2)	3,01 (3)	4,99 (5)	1,89 (2)	1,02 (1)	1,02 (1)	3,14 (3)	2,04 (2)	0,91 (1)	2,74 (3)	1,98 (2)	1,85 (2)	0,98 (1)	0,99 (1)
83	1,08 (1)	2,22 (2)	3,09 (3)	5,01 (5)	2,85 (3)	0,83 (1)	1,11 (1)	3,23 (3)	2,13 (2)	1,12 (1)	1,99 (2)	2,09 (2)	1,86 (2)	0,99 (1)	1,03 (1)
84	1,01 (1)	1,98 (2)	3,09 (3)	5,01 (5)	1,71 (2)	1,69 (2)	1,07 (1)	3,18 (3)	2,07 (2)	0,94 (1)	1,99 (2)	1,90 (2)	1,84 (2)	0,98 (1)	1,01 (1)
85	1,07 (1)	2,12 (2)	3,11 (3)	5,03 (5)	1,88 (2)	0,93 (1)	1,83 (2)	3,23 (3)	2,11 (2)	1,11 (1)	1,97 (2)	2,03 (2)	1,94 (2)	0,97 (1)	1,02 (1)

86	1,03 (1)	2,11 (2)	3,07 (3)	5,03 (5)	2,10 (2)	0,88 (1)	1,11 (1)	3,21 (3)	3,00 (3)	0,98 (1)	1,97 (2)	2,05 (2)	1,88 (2)	1,01 (1)	0,99 (1)
87	1,11 (1)	2,16 (2)	3,13 (3)	5,03 (5)	1,94 (2)	0,89 (1)	1,09 (1)	4,05 (4)	2,23 (2)	0,93 (1)	1,97 (2)	2,07 (2)	1,92 (2)	0,95 (1)	1,00 (1)
88[f]	1,03 (1)	2,14 (2)	3,16 (3)	5,07 (5)	1,71 (2)	0,93 (1)	1,02 (1)	3,21 (3)	2,09 (2)	0,94 (1)	1,93 (2)	2,01 (2)	1,88 (2)	0,99 (1)	1,02 (1)
89	1,08 (1)	1,97(2)	3,89 (4)	5,06 (5)	1,95 (2)	0,88 (1)	1,03 (1)	3,19 (3)	2,08 (2)	0,92 (1)	1,94 (2)	2,03 (2)	1,87 (2)	0,99 (1)	0,97 (1)
90[g]	1,00 (1)	2,09 (2)	3,18 (3)	5,04 (5)	1,97 (2)	0,86 (1)	1,02 (1)	3,23 (3)	2,10 (2)	1,01 (1)	1,96 (2)	2,09 (2)	1,92 (2)	1,04 (1)	0,97 (1)
91	1,04 (1)	2,08 (2)	3,07 (3)	5,73 (6)	1,87 (2)	0,80 (1)	1,05 (1)	3,21 (3)	2,10 (2)	1,05 (1)	1,93 (2)	1,95 (2)	1,79 (2)	1,11 (1)	1,06 (1)
92	1,01 (1)	3,11 (3)	3,02 (3)	5,03 (5)	1,83 (2)	0,82 (1)	0,99 (1)	3,19 (3)	2,07 (2)	1,06 (1)	1,97 (2)	2,00 (2)	1,87 (2)	0,97 (1)	1,03 (1)
93	1,05 (1)	2,12 (2)	3,02 (3)	5,04 (5)	1,98 (2)	0,82 (1)	1,02 (1)	3,28 (3)	2,14 (2)	1,00 (1)	1,96 (2)	2,06 (2)	2,75 (3)	0,95 (1)	1,03 (1)
94	1,07 (1)	2,17 (2)	3,04 (3)	5,08 (5)	1,72 (2)	0,82 (1)	1,14 (1)	3,20 (3)	2,06 (2)	1,06 (1)	1,92 (2)	2,06 (2)	2,00 (2)	1,26 (1)	1,72 (2)
95	1,05 (1)	2,18 (2)	3,04 (3)	5,04 (5)	1,84 (2)	0,80 (1)	1,04 (1)	3,31 (3)	2,14 (2)	0,95 (1)	1,96 (2)	2,02 (2)	1,88 (2)	1,76 (2)	1,14 (1)
96[h]	1,03 (1)	2,25 (2)	3,03 (3)	5,00 (5)	1,84 (2)	0,78 (1)	1,14 (1)	3,30 (3)	2,15 (2)	1,05 (1)	2,02 (2)	1,96 (2)	1,84 (2)	1,07 (1)	1,05 (1)
120	1,11	1,98	3,05	5,06	1,91	1,03	1,03	3,18	2,07	0,93	1,95	2,94	1,88	0,99	1,00

(1) (2) (3) (5) (2) (1) (1) (3) (2) (1) (2) (3) (2) (1) (1)

[a] Methionin 0,96 (1); Tyrosin 0,86 (1)

[b] Methionin 0,94 (1)

[c] Tyrosin 0,82 (1)

[d] Prolin 1,02 (1)

[e] Cystein konnte bei den gegebenen Hydrolysebedingungen nicht nachgewiesen werden.

[f] Methinon 0,93 (1)

[g] Prolin 0,86 (1)

[h] Tyrosin 0,87 (1)

Beispiel 10: Pharmakologische Daten

Peptidmetabolismus in Ektopeptidase-Preparationen oder an Nieren-Microvilli Membranpräparationen

Hintergrund

Eine Gruppe von Ektopeptidasen ist verantwortlich für den post-sekretorischen Metabolismus von Peptidhormonen. Diese Enzyme sind an die Plasma-Membranen von verschiedenen Zelltypen gebunden. Ihre „active site" ist in Richtung des extrazellulären Raumes orientiert. Außerdem sind diese Enzyme in hohen Konzentrationen in den Bürstensaum Membranen der nierennahen Tubuli vorhanden. Nieren Bürstensaum Microvillimembranen (BBM) sind also eine gute Quelle für die relevanten Ektopeptidasen und können als in vitro Test für die metabolische Stabilität von synthetischen Peptiden eingesetzt werden. Alternativ können Ektopeptidase-Preparationen verwendet werden. Beispielhaft wurden die humane Neutrale Endopeptidase 24.11 sowie die Dipeptidyl Peptidase IV eingesetzt, da GLP-1 ein Substrat dieser beiden Ektopeptidasen ist.

Präparation von Bürstensaum Microvillimembranen

Mittels subzellulärer Fraktionierung unter Verwendung der Differentialzentrifugationsmethode (Booth and Kenny (1975)) werden Microvillimembranen des Ratten- und Schweinenierencortex isoliert. Zur Beurteilung des Reinheitsgrades und der Ausbeute der Membranen werden 4 Bürstensaum-Ektopeptidasen fluorimetrisch und andere Markerenzyme kolorimetrisch gemessen.

Ektopeptidase Präparationen

Gereinigte humane Neutrale Endopeptidase 24.11 wurde in der rekombinanten Form von Genentech (San Francisco, USA), Dipeptidyl Peptidase IV wurde als Isolat aus humaner Placenta von Calbiochem (Bad Soden) bezogen.

Inkubations-Prot koll

Microvilli Membranen (0,5 - 1 µg Protein) oder die jeweilige Ectopeptidase Präparation (60-300 ng) wurden mit 10 µg Peptid (etwa 3 nmol) in 100 µl HEPES Puffer (50 mM, pH 7,4), welcher 50 mM NaCl enthielt, inkubiert. An vorher bestimmten Zeitpunkten (Dauer bis zu 1 Stunde) wurden die Reaktionen durch Kochen abgebrochen. Anschließend wurden die Proben zentrifugiert (10.000 × g), mit 150 µl 0,1% TFA verdünnt und mittels „reversed phase" (RP) HPLC analysiert. Jede Probe wurde doppelt bestimmt.

HPLC Analyse

Für die HPLC Analyse wurde ein System mit den folgenden Komponenten verwendet: Eine „2248" Niederdruckpumpe (Pharmacia-LKB, Freiburg), ein WISP 10B Autoinjector (Millipore-Waters, Eschborn), ein UV-Detektor SP-4 (Gynkotec, Berlin), ein Niederdruck-Mischsystem (Pharmacia-LKB, Freiburg) und einer „Program Manager" Software-Steuerung (Pharmacia-LKB, Freiburg). Die Trennungen erfolgten über Lichrospher C-8, 5µ, 4 × 124 mm (Merck, Darmstadt) mit einem binären Gradienten mit den Laufmitteln A: 0,1% Trifluoressigsäure (TFA) und B: Acetonitril:Wasser:TFA (70:29,9:0,1). Nach der Injektion von 244 µl der Probenlösung auf die mit Laufmittel A equilibrierte Säule, wurden die Inkubationsprodukte mit einem linearen Gradienten von 0% auf 80% B in 80 min eluiert und bei 215 nm UV-Absorption detektiert.

Berechnung der Proteolyse-Raten

Für jede Inkubationszeit eines jeden Peptides wurden zwei Messungen durchgeführt und die mittlere Peak-Höhe des Substrat-Peaks gegen die Zeit aufgetragen. Am Beispiel von GLP-1 konnte gezeigt werden, daß die Peakhöhe linear proportional zur Quantität des Peptides in der Probenlösung ist. Innerhalb der ersten Stunde der Inkubation mit den Microvilli-Membranen oder den Peptidasen konnte außerdem eine lineare Abnahme der Peakhöhe mit der Zeit beobachtet werden. Die Proteolyse-Rate wird also durch die Abnahme der Höhe des Substratpeaks bestimmt und in [µmol Substrat/mg Protein/Minute] angegeben.

Abbaustabilität von Exendin-Analoga

Inkubation mit humaner Neutraler Endopeptidase 24.11b

[Nle^{14},Arg^{30}]-Exendin-4-(1-30)-NH_2 (Seq.ID Nr. 3) wurde mit der Neutralen Endopeptidase 24.11 wie oben beschrieben inkubiert und die Abbaurate wurde bestimmt. Als Kontrolle diente GLP1-(7-36)-NH_2. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3

	Abbaurate [mM/ 100ng/ml NEP24.11/ min]
GLP1-(7-36)-NH_2	0,0586
[Nle^{14},Arg^{30}]-Ex-4-(1-30)-NH_2 Bsp. 1	0,0083

Inkubationen mit Dipeptidyl Peptidase IV

Die in Tabelle 4 aufgeführten Peptide wurden mit Dipeptidyl Peptidase IV (DDP-IV) wie oben beschrieben inkubiert. Die Inkubation wurde jeweils zu dem Zeitpunkt abgebrochen, bei dem GLP1-(7-36)-NH_2 50% Hydrolyse zeigte. Der Substratpeak jedes Peptides wurde aus dem rpHPLC-Lauf gesammelt und massenspektroskopisch untersucht, um trunkierte Produkte auszuschließen.

Tabelle 4

Analogon	**Seq.ID**	**Substrat für DDP-IV**
[Ala^{2},Nle^{14},Arg^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	78	keine Proteolyse
GLP1-(7-36)-NH_2		50% Proteolyse

Inkubationen mit Bürstensaum Microvillimembranen

In Tabelle 5 sind die Proteolyseraten aufgeführt, welche nach Inkubation mit Bürstensaum Microvillimembranen (BBM) nach dem oben beschriebenen Protokoll berechnet wurden. Als Kontrolle dienten GLP1-(7-36)-NH_2.

Tabelle 5

Analogon	Seq.ID	Abbaurate [ng Peptid/min/mg BBM]
GLP1-(7-36)-NH_2		880,00
[Lys^2,Nle^{14},Arg^{30}]-Ex-3-(1-30)-NH_2	86	2,05

Insulinsekretion an isolierten Inselzellen

Organentnahme

Den narkotisierten (0,3 - 0,5 ml Nembutal/isoton. Kochsalzlsg 1:4, i.p.) Mäusen wird durch einen Medianschnitt und zwei Flankenschnitte das Abdomen geöffnet, das Bauchfell fixiert und am Rippenbogen entlang das Zwerchfell aufgeschnitten. Durch Injektion einer Neutralrotlösung in die linke Herzkammer werden sämtliche Organe aufgebläht und rot angefärbt. Das Pankreas wird am Magen und am Duodenum entlang bis zu den Mesenterien vorsichtig abpräpariert. Bis zur Verdauung wird der Pankreas in einer eisgekühlten Petrischale in Hank's balanced salt solution (HBBS) und einigen Tropfen Neutralrot abgelegt.

Inselpräparation

Jeweils zwei Pankreas werden mit Zellstoff abgetupft, in ein Röhrchen gegeben, mit 5 ml frisch angesetzter Kollagenaselösung (Kollagenase (Cl. histolyticum) 0,74 U/mg, Serva, 2 mg/ml in HBBS/Wasser 1:9, pH 7,4) versetzt und unter Schütteln bei 37°C 18 Minuten

inkubiert. Anschließend wird mit 1000 rpm 1 Minute zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen. In einem zweiten Verdauungsschritt wird mit 5 ml Kollagenaselösung (1mg/ml) 4 Minuten inkubiert, geschüttelt und unverdautes Gewebe sedimentiert. Der Überstand wird dekantiert und der ganze Vorgang vier- bis fünfmal wiederholt. Der Überstand wird nun 1 Minute bei 1000 rpm zentrifugiert und die Kollagenaselösung verworfen. Das verbleibende Pellet wird mit eiskaltem HBBS aufgeschüttelt und ca. 10 Minuten auf Eis sedimentiert. Dieser Waschvorgang wird noch dreimal wiederholt. Aus den gewaschenen Pellets werden unter einer Stereolupe die schwach rosa angefärbten Inseln herausgepickt und in Kulturmedium (100ml RPMI 1640 (Gibco), 1 ml Glutamin, 1 ml Penicillin, 1 ml Cibrobay Antibiotikum (Bayer), 10 ml fötales Kälberserum, 2 ml Hepes-Puffer 1M) umgesetzt. Um eine möglichst reine Kultur zu erhalten, werden die Inseln zwei- bis dreimal gepickt und in frisches Kulturmedium umgesetzt.

Stimulation der Inseln

Die Inselzellen werden aus dem Kulturmedium zu je 10 Inseln in Eppendorfgefäße mit 200 ml Stimulationspuffer (NaCl 118 mM, NaH_2PO_4 0,2 mM, $MgCl_2$ 0,565 mM, $CaCl_2$ 1,25 mM, Kcl 4,7 mM, Hepes 10 mM, BSA 1%, Glukose 3,3 mM; pH 7,4) verteilt und für eine Stunde bei 37°C in den Brutschrank gestellt. Anschließend werden die zu testenden Peptide zugegeben und mit Stimulationspuffer auf 500 ml aufgefüllt und eine Stunde bei 37°C inkubiert. Die Inseln werden bei 1000 rpm 1 Minute lang abzentrifugiert. Im Überstand wird die Menge an C-Peptid mit dem Insulin-RIA (DPC Biermann, Nauheim) gemessen. Jede Testsubstanz wurde vierfach bestimmt.

Aktivität der Exendin-Analoga

Einige Exendin-Analoga wurden wie oben beschriebenen an isolierten Inseln Zellen auf insulinsekretorische Aktivität getestet. Die Daten sind beispielhaft in folgender Tabelle:

Insulinfreisetzung aus isolierten Inseln nach 1 Stunde [mIU/h/10 Inseln] in Anwesenheit von 10 mM Glukose:

Tabelle 6

	Kontrolle	GLP1-(7-36)-NH_2	Seq.ID 84
10 mM Glukose	30,21		
10^{-7} (10mM Glukose)		53,52	48,94
10^{-8} (10mM Glukose)		42,78	41,72
10^{-9} (10mM Glukose)		29,99	38,76
10^{-10} (10mM Glukose)			35,05

Messung der Erhöhung der cytosolischen Calciumkonzentration in B-Zellen des endokrinen Pankreas (klonale B-Zellinie INS-1)

Zucht von INS-1-Zellen (Asfari, M., 1992):

INS-1-Zellen werden in RPMI 1640 Medium mit 10% FKS, 10 mM HEPES-Puffer (pH 7,4), 2 mM L-Glutamin, 100 i.U. Penicillin/ml, 100 µg Streptomycin/ml, 1 mM Pyruvat (Natriumsalz) und 50 µM 2-Mercaptoethanol kultiviert, bei 37° C, in einer Atmosphäre von 95 % Luft und 5 % CO_2. Nach 6 bis 8 Tagen Wachstum auf Kunststoff-Zellkulturplatten werden die subkonfluenten Zellen nach einmaligem Spülen mit PBS (phosphate-buffered saline) durch vierminütige Inkubation bei 37° C mit 0,025 % Trypsin und 0,27 mM EDTA in isoosmotischer Salzlösung von der Unterlage abgelöst.

Präparation der Zellen für Calciummessungen:

Die abgelösten Zellen werden in Spinnermedium (Kulturmedium wie oben, jedoch mit 5% FKS sowie 25 mM HEPES) resuspendiert und bei 37° C zweieinhalb Stunden in einer Spinnerflasche mit Rührstab inkubiert. Danach Entfernung des Mediums durch Zentrifugation und Resuspension der Zellen in Spinnermedium. Dann für 30 Minuten

Inkubation bei 37° C mit 2 µM Fura-2/Acetoxymethylester, unter denselben Bedingungen wie zuvor. Die Fura-Beladung der Zellen wird durch einmaliges Waschen der Zellen in Spinnermedium (Raumtemperatur) beendet. Danach werden die Zellen in Spinnermedium mit Raumtemperatur resuspendiert (2 x 10^7 Zellen/ml). Aus dieser Suspension werden die Zellen für Calciummessungen entnommen.

Messungen der cytosolischen Calciumkonzentarion:

Die Messungen erfolgen bei 37° C in einem modifizierten Krebs-Ringer Puffer (KRBH) mit 136 mM NaCl, 4,8 mM KCl, 2 mM $CaCl_2$, 1,2 mM $MgSO_4$, 1,2 mM KH_2PO_4, 5 mM $NaHCO_3$, 10 mM Glukose, 250 µM Sulfinpyrazon (zur Hemmung von Fura-2 Efflux in das Medium) und 25 mM HEPES-Puffer (mit NaOH auf pH 7,4). Die Zellkonzentration beträgt 1-2 x 10^6/ml. Die Messungen werden in einer mittels Rührstab gerührten Küvette in einem Spektralfluorimeter bei 37° C durchgeführt, mit 1,5 ml Zellsuspension. Exzitationswellenlänge ist 340 nm, Emissionswellenlänge 505 nm. Am Ende der Messungen werden 50 µM $MnCl_2$ und darauf 100 µM DTPA (Dieethylentriaminpentaacetat) zugegeben, um durch eine vorübergehende Löschung ("Quenching") der Fluoreszenz von extrazellulärem Fura den Anteil des extrazellulären Fluoreszenzindikators an der gemessenen Fluoreszenz bestimmen zu können. Nach der Zugabe von DTPA folgt die Überführung des gesamten Furas zunächst in einen calciumgesättigten und dann in einen calciumfreien Zustand, zur Ermittlung der Eichwerte F_{max} (calciumgesättigt) und F_{min} (calciumfrei) für die jeweilige Messung. Dazu werden die Zellen durch Zugabe von 0.1 % Triton X-100 lysiert. Durch den Kontakt mit der hohen extrazellulären Calciumkonzentration wird der Farbstoff mit Calcium gesättigt. Danach werden 5 mM EGTA (Ethylenbis(oxyethylennitrilo)-tetraacetat) und 20 mM Tris-Lösung zugegeben, um den Farbstoff vollständig in die calciumfreie Form zu überführen.

Die Berechnung der cytosolischen Calciumionenkonzentration erfolgt nach dem von R. Tsien und Mitarbeitern eingeführten Algorhythmus (Grynkiewicz, G., 1985):

$$[Ca^{2+}]_{cyt} = ((F - F_{min})/(F_{max} - F)) \times K_D$$

(F: Fluoreszenz des jeweiligen Meßpunkts;
K_D: Dissoziationskonstante des Calciumkomplexes des Fura-2, 225 nM (Grynkiewicz, G., 1985))

(Vor dieser Berechnung wird eine Kompensation für die Anwesenheit von extrazellulärem Fura durchgeführt. Dazu wird zunächst der durch Manganzugabe ermittelte Fluoreszenzbetrag (extrazelluläres Fura) von den Fluoreszenzwerten der Meßpunkte subtrahiert. Dann wird F_{max} durch die Subtraktion desselben Betrags korrigiert. Schließlich wurde der Korrekturbetrag für F_{min} ermittelt. Dazu wird der durch Manganzugabe bestimmte Fluoreszenzbetrag durch den Wert 2,24 dividiert. Der Wert 2,24 war als geräteeigener Proportionalitätsfaktor zwischen der Fluoreszenz von calciumgesättigtem und calciumfreiem Fura-2 bei einer Exzitationswellenlänge von 340 nm bestimmt worden (gemessen mit unverestertem, freiem Fura-2). Der so erhaltene Korrekturbetrag wurde von F_{min} subtrahiert.)

Die untersuchten Peptide wurden aus tausendfach konzentrierten Lösungen (10^{-5} M) in KRBH ohne $CaCl_2$ und Glukose zugegeben.

Aktivität der Exendin-Analoga

Einige Exendin-Analoga wurden im oben beschriebenen Calcium-Assay an INS-1 Zellen auf ihre biologische Aktivität getestet. Die Daten sind beispielhaft in Abbildung 1 als auch in Tabelle 7 gezeigt.

Tabelle 7

SEQ. ID Nr.	Konzentration der Peptide 10^{-8} M	$\Delta [Ca^{2+}]cyt$ ± SD (n = 4)
6	[Arg^{30}]-Exendin-(1-30)-NH_2	64 ± 8 nM
3	[Nle^{14}, Arg^{30}]-Exendin-(1-30)- NH_2	63 ± 8 nM
8	[Ala^{21}, Arg^{30}]-Exendin-(1-30)- NH_2	61 ± 11 nM
9	[Ala^{28}, Arg^{30}]-Exendin-(1-30)- NH_2	65 ± 15 nM
10	[$Ala^{21,28}$, Arg^{30}]-Exendin-(1-30)- NH_2	69 ± 30 nM
	Kontrolle:	
	GLP-1-(7-36)amide	65 ± 10 nM

Kompetition mit GLP1-(7-36)-NH_2 an B-Zellen des endokrinen Pankreas (klonale B-Zellinie INS-1)

Zucht von INS-1-Zellen (Asfari, M., 1992)

siehe Messung Calciumconcentration

Kompetitionsversuche

Die abgelösten Zellen werden in Krebs-Ringer-Puffer (25 mM Tris, 120 mM NaCl, 1,2 mM $MgSO_4$ 5 mM Kcl, 1mM Na-EDTA, 15 mM CH_3COONa, eingestellt auf pH 7,4, versetzt mit 1% HSA und 0,1% Bacitracin) aufgenommen und suspendiert. Aus dieser Suspension werden jeweils 250 ml für einen Ansatz entnommen, mit 20 ml Tracer (^{125}I-GLP1-(7-36)-NH_2, 20 000 cpm) und 30 ml des zu untersuchenden Peptides in der entsprechenden Verdünnung versetzt. Anschließend wird 30 Minuten bei 37°C inkubiert, 4 Minuten bei 13 000 rpm zentrifugiert, dreimal mit Puffer gewaschen und die am Pellet gebundene Radioaktivität (γ-Counter) gemessen. Kompetitionskurven wurden durch

Inkubation mit 10 verschiedenen Verdünnungen des zu testenden Peptides (10^{-10} - 10^{-6} M in Krebs-Ringer-Puffer) erhalten.

Rezeptoraffinität der Exendin-Analoga

Die Daten sind beispielhaft in Tabelle 8 aufgeführt. GLP1-(7-36)-NH_2 diente als Standard.

Tabelle 8

Seq. ID	Peptid	Kd_{GLP1} ± SD [nM]	Kd ± SD [nM]	Kd/Kd_{GLP1}
69	[Nle^{14},Tyr^{30}]-Ex3-(1-30)-NH_2	1,04 ± 0,05	0,56 ± 0,08	0,5

Literatur

Albericio, F. and Barany, G. (1987) *Int. J. Peptide Protein Res.* **30**, 206-216.

Asfari, M., Janjic, D., Meda, P., Li, G., Halban, P. A. and Wollheim, C. B. (1992) *Endocrinology* **130**, 167-178.

Barlos, K., Gatos, D., Kapolos, S., Paphotiu, G., Schafer, W., and Wengqing, Y. (1989) *Tetrahedron Lett.* **30**, 3947-3950.

Booth, and Kenny, (1975) *Biochem. J.* **142**, 575-581.

Eng, J., Andrews, P. C., Kleinman, W. A., Singh, L., and Raufman, J.-P. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 20259-20262.

Eng, J., Andrews, P. C., Kleinman, W. A., Singh, L., Singh, G., and Raufman, J.-P. (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 7402-7405.

Fehmann, H.C., Göke, R., Göke, B., Bachle, R., Wagner, B. and Arnold, R. (1991) *Biochim. Biophys. Acta* **1091**, 356-63.

Göke, R., Wagner, B., Fehmann, H. C. and Göke, B. (1993a) *Res. Exp. Med. Berl.* **193**, 97-103

Göke, R., Fehman, H. C., Linn, T., Schmidt, H., Eng, J. and Göke, B. (1993b) *J. Biol. Chem.* **268**, 19650-19655.

Grynkiewicz, G., Poenie, M. and Tsien, R. Y. (1985) *J Biol Chem* **260**, 3440-3450.

Gutniak, M., Orskov, C., Holst, J. J., Ahren, B. and Efendic, S. (1992) *N. Engl. J. Med.* **326**, 1316-1322.

Komatsu, R., Matsuyama, T., Namba, M., Watanabe, N., Itoh, H., Kono, N.and Tarui, S. (1989) *Diabetes* **38**, 902-905.

Kreymann, B., Williams, G., Ghatei, M. A. and Bloom, S. R. (1987) *Lancet* **2(8571)**, 1300-1304.

Nathan, D.M., Schreiber, E., Fogel, H., Mojsov, S. and Habener, J. F. (1992) *Diabetes Care* **15**, 270-276.

Nauck, M. A., Kleine, N. Orskov, C., Holst, J. J., Willms, B. and Creutzfeld, W. (1993a) *Diabetologia* **36**, 741-744.

Nauck, M. A., Heimesaat, M. M., Orskov, C., Holst, J. J., Ebert, R. and Creutzfeld, W. (1993b) *J. Clin. Invest.* **91**, 301-307.

Raufman, J. P., Singh, L., Singh, G. and Eng, J.. (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 21432-21437.

Rink, H. (1987) *Tetrahedron Lett.* **28**, 3787-3790.

Thorens, B., Porret, A., Buehler, L., Deng, S.P., Morel, P. and Widman, C. (1993) *Diabetes* **42**, 1678-1682.

Wang, S. S. (1973) *J. Am. Chem. Soc.* **95**, 1328-1333.

SEQUENZPROTOKOLL

(1) ALLGEMEINE ANGABEN:

(i) ANMELDER:

(A) NAME: BOEHRINGER MANNHEIM GMBH

(B) STRASSE: Sandhofer Str. 116

(C) ORT: Mannheim

(E) LAND: Deutschland

(F) POSTLEITZAHL: D-68305

(G) TELEFON: 0621/759-3197

(H) TELEFAX: 0621/759-4457

(ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG: Exendin Analoga, Verfahren zu deren Herstellung und diese enthaltende Arzneimittel

(iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 118

(iv) COMPUTER-LESBARE FASSUNG:

(A) DATENTRÄGER: Floppy disk

(B) COMPUTER: IBM PC compatible

(C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS

(D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30B (EPA)

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 1:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:30

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet alle Aminosaeuren ausser Gly"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

His	Ser	Asp	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Met	Glu	Glu
1				5				10					15		

Glu	Ala	Val	Arg	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Xaa
			20				25				30		

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 2:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:30

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet alle Aminosaeuren ausser Gly"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:

His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Met	Glu	Glu
1				5				10						15	

Glu	Ala	Val	Arg	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Xaa
			20				25					30	

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 3:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 4:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Tyr
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 5:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 6:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 7:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 29 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:13

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu Glu
1 5 10 15

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 8:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 8:

His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Met	Glu	Glu
1				5					10						15

Glu	Ala	Val	Arg	Ala	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Arg
			20				25					30	

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 9:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 9:

His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Met	Glu	Glu
1				5					10						15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Ala Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 10:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 10:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Ala Phe Ile Glu Trp Leu Lys Ala Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 11:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 11:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 12:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 12:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ile Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg

20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 13:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 27 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 13:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys
20 25

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 14:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 14:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Ala Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 15:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG:

Glu Ala Val Arg Lesp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu

1 5 10 15

O: 3:

(i) SEQUENZKENNZEIle Glu Trp Leu Ala Asn Gly Arg

20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 16:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 16:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ala Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID N (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

Aminosäuren

(B) ART: A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

FORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 17:

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 18:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C)

(B) LAGE:14

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 18:

His	Cys	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Xaa	Glu	Glu
1				5					10						15

Glu	Ala	Val	Arg	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Arg
		20					25					30	

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 19:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 19:

His Asp Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 20:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 20:

His Glu Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 21:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 21:

His Phe Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 22:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 22:

His His Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 23:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 23:

His Ile Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 24:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 24:

His Lys Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 25:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 25:

His Leu Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 26:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 26:

His Met Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 27:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 27:

His Asn Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 28:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 28:

His Pro Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 29:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 29:

His Gln Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 30:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 30:

His	Arg	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Xaa	Glu	Glu
1				5				10					15		

Glu	Ala	Val	Arg	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Arg
		20				25					30		

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 31:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 31:

His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 32:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 32:

His Thr Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 33:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 33:

His Val Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 34:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 34:

His Trp Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg

20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 35:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 35:

His Tyr Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg

20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 36:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 36:

His Ala Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Ser Tyr Met Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Val Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 37:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 37:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Ala Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 38:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 38:

His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 39:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 39:

Ala Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Val Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 40:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 40:

His Gly Ala Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 41:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 41:

His Gly Glu Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 42:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 42:

His	Gly	Glu	Gly	Tyr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Ala	Glu	Glu
1				5					10					15	

Glu	Ala	Val	Arg	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Arg		
			20					25					30		

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 43:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 43:

His Gly Glu Gly Thr Tyr Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 44:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 44:

His Gly Glu Gly Thr Ile Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 45:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 45:

His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Ala	Glu	Glu
1				5				10					15		

Glu	Ala	Val	Arg	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Arg		
			20				25				30				

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 46:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 46:

His Gly Glu Gly Thr Phe Tyr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 47:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 47:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Thr Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 48:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 48:

His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Tyr	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Ala	Glu	Glu
1				5				10						15	

Glu	Ala	Val	Arg	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Arg	
		20				25					30			

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 49:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 49:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 50:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 50:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 51:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 51:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ala Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 52:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 52:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Ala Gln Ala Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 53:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 53:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Ala Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 54:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 54:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Ala Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 55:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 55:

Gly Ser Asp Gly Ser Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Ala
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 56:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 56:

Lys Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Ala Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 57:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 57:

His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Ala	Glu	Glu
1				5				10						15	

Glu	Leu	Val	Arg	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Arg		
			20				25				30				

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 58:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 58:

His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Ala	Glu	Glu
1				5				10						15	

Glu Ala Ile Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 59:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 59:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Ala Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 60:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 60:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Tyr Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 61:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 61:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Val Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg

20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 62:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 62:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Leu Trp Leu Lys Asn Gly Arg

20 20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 63:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 63:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Ala Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 64:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 64:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ala Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 65:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 65:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Ala Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 66:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 66:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Ala Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 67:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 67:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 68:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 68:

His	Ser	Asp	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Met	Glu	Glu
1				5					10						15

Glu	Ala	Val	Arg	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Arg
			20				25					30	

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 69:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 69:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Tyr
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 70:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 70:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 71:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 71:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 72:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 29 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:13

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 72:

Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu Glu
1 5 10 15

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 73:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 28 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:12

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 73:

Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu Glu Ala
1 5 10 15

Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 74:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 29 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:13

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 74:

Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu Glu
1 5 10 15

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 75:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 28 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:12

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 75:

Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu Glu Ala
1 5 10 15

Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 76:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 27 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 76:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys
20 25

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 77:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 77:

His Lys Pro Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 78:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 78:

His Ala Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 79:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 79:

His	Cys	Asp	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Xaa	Glu	Glu
1				5				10					15		

Glu	Ala	Val	Arg	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Arg	
		20				25					30			

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 80:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 80:

His Asp Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 81:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 81:

His Glu Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 82:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 82:

His Phe Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 83:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 83:

His Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg

20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 84:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 84:

His His Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg

20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 85:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 85:

His Ile Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 86:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 86:

His Lys Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 87:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 87:

His Leu Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 88:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 88:

His	Met	Asp	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Xaa	Glu	Glu
1				5					10						15

Glu	Ala	Val	Arg	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Arg
			20				25					30	

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 89:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 89:

His Asn Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 90:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 90:

His Pro Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 91:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 91:

His Gln Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg

20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 92:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 92:

His Arg Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 93:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 93:

His Thr Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 94:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 94:

His Val Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 95:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 95:

His Trp Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 96:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Peptide

(B) LAGE:14

(D) SONSTIGE ANGABEN:/product= "Xaa bedeutet Nle"

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 96:

His Tyr Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 97:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 97:

His Ser Ala Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 98:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 98:

His Ser Asp Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 99:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 99:

His Ser Asp Gly Tyr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 100:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 100:

His Ser Asp Gly Thr Tyr Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 101:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 101:

His Ser Asp Gly Thr Ile Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 102:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 102:

His Ser Asp Gly Thr Phe Ser Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 103:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 103:

His Ser Asp Gly Thr Phe Tyr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 104:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 104:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Thr Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 105:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 105:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Tyr Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 106:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 106:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 107:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 107:

His	Ser	Asp	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Ala	Ser	Lys	Gln	Ala	Glu	Glu
1				5				10						15	

Glu	Ala	Val	Arg	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Arg		
			20				25				30				

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 108:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 108:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ala Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 109:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 109:

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Ala Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 110:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 110:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Ala Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 111:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 111:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Ala Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 112:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 112:

Lys Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Ala Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 113:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 113:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Leu Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 114:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 114:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Ile Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 115:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 115:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Ala Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 116:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 116:

His	Ser	Asp	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Ala	Glu	Glu
1				5				10						15	

Glu	Ala	Val	Arg	Leu	Tyr	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Arg
			20				25				30		

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 117:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 117:

His	Ser	Asp	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Ala	Glu	Glu
1				5				10						15	

Glu Ala Val Arg Leu Phe Val Glu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 118:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 30 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 118:

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Leu Trp Leu Lys Asn Gly Arg
20 25 30

Ansprüche

1. Peptid, dadurch gekennzeichnet, daß es die Sequenz 1 oder 2 aufweist

SEQ ID NO: 1

1				5					10					15				
H	S	D	G	T	F	T	S	D	L	S	K	Q	M	E	E	E	A	V
20					25					30								
R	L	F	I	E	W	L	K	N	G	X								

SEQ ID NO: 2

1				5					10					15				
H	G	E	G	T	F	T	S	D	L	S	K	Q	M	E	E	E	A	V
20					25					30								
R	L	F	I	E	W	L	K	N	G	X								

wobei X eine proteogene oder nichtproteogene Aminosäure außer Glycin bedeutet, die Aminosäuren in Position 1, 2, 28, 29 oder 30 unabhängig voneinander einzeln oder zusammen Teil der Sequenz sein können und der N-Terminus durch NR_1R_2 dargestellt wird, wobei

R_1 Wasserstoff, Acetyl, Trifluoracetyl, Adamantyl, Fmoc, Z, Boc, Alloc, C_1-C_6-Alkyl, C_2-C_8 Alkenyl oder C_7-C_9 Aralkyl,

R_2 Wasserstoff, Acetyl, Trifluoracetyl, Adamantyl, Fmoc, Z, Boc, Alloc, C4-C_6-Alkyl, C_2-C_8 Alkenyl oder C_7-C_9 Aralkyl, bedeuten

und der C-Terminus durch COR_3 dargestellt wird, wobei

R_3 gleich OR_4 oder NR_4R_5
mit R_4 gleich Wasserstoff oder C_1-C_6-Alkyl
mit R_5 gleich Wasserstoff oder C_1-C_6-Alkyl

bedeutet, sowie deren physilogisch verträglichen Salze und Ester.

2. Peptide nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens eine aber höchstens 11 der folgenden Modifikationen an der Aminosäurekette erfolgt sind

(a) Die α-Aminosäure in Position 1 ist D-His, Ala, D-Ala, Gly, Lys oder D-Lys, wobei Ala, Gly oder Lys besonders bevorzugt werden; oder

(b) Die α-Aminosäure in Position 2 ist Ser, D-Ser, Thr, D-Thr, Gly, Ala, D-Ala, Ile, D-Ile, Val, D-Val, Leu oder D-Leu, bevorzugt Ser, Thr, Gly, Ala, Val, Ile oder Leu; oder

(c) Die α-Aminosäure in Position 3 ist Glu, D-Glu, Asp, D-Asp, Ala oder D-Ala, bevorzugt Glu, Asp oder Ala; oder

(d) Die Aminosäure in Position 4 ist Ala, D-Ala oder ß-Ala, bevorzugt Ala; oder

(e) Die α-Aminosäure in Position 5 ist Ser, Tyr oder Ala; oder

(f) Die α-Aminosäure in Position 6 ist Ala, Ile, Val, Leu, Cha oder Tyr, bevorzugt Ala, Ile, Val, Leu oder Tyr; oder

(g) Die α-Aminosäure in Position 7 ist Ala, D-Ala, Tyr, D-Tyr, Ser, D-Ser oder D-Thr, bevorzugt Ala, Tyr oder Ser; oder

(h) Die α-Aminosäure in Position 8 ist Ala, Tyr oder Thr; oder

(i) Die α-Aminosäure in Position 9 ist Ala, D-Ala, Glu, D-Glu oder D-Asp, bevorzugt Ala oder Glu; oder

(j) Die Aminosäuren in Position 10, 11, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 24, 28, 29, sind unabhängig voneinander eine proteinogene oder nicht-

proteinogene D- oder L-Aminosäure, bevorzugt eine proteinogene L-Aminosäure; oder

(k) Die α-Aminosäure in Position 13 ist eine neutrale L-Aminosäure, bevorzugt eine neutrale proteinogene L-Aminosäure; oder

(l) Die α-Aminosäure in Position 14 wird ersetzt durch eine neutrale L- oder D-Aminosäure außer L-Leucin, bevorzugt durch Nle, D-Nle, Ala, D-Ala, Ile, D-Ile, Val oder D-Val, besonders bevorzugt sind Ile, Val oder Ala; oder

(m) Die α-Aminosäure in Position 22 ist D-Phe, Tyr, D-Tyr, Leu, D-Leu, Val, D-Val, L-Cha, D-Cha, ß-1-Nal, ß-2-Nal oder ß-1-D-Nal, bevorzugt sind Tyr, Leu oder Val; oder

(n) Die α-Aminosäure in Position 23 ist Leu, D-Leu, D-Ile, Val, D-Val, L-Cha, D-Cha, Tyr, D-Tyr, Phe oder D-Phe, bevorzugt sind Leu, Val, Tyr oder Phe; oder

(o) Die α-Aminosäure in Position 25, 26 oder 27 ist eine neutrale L- oder D-Aminosäure, bevorzugt eine neutrale, proteinogene L-Aminosäure; oder

(p) Die α-Aminosäure in Position 30 ist eine proteinogene oder nicht-proteinogene D- oder L-Aminosäure außer Glycin, bevorzugt Arg, D-Arg, Tyr oder D-Tyr, besonders bevorzugt sind Arg oder Tyr.

3. Peptid nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß es nur proteinogene Aminosäuren enthält.

4. Peptid nach einem der Ansprüche 1-3, dadurch gekennzeichnet, daß in Position 2 gegenüber der Sequenz 1 oder 2 ein Aminosäureaustausch erfolgt ist.

5. Peptid nach einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, daß in Position 14 gegenüber der Sequenz 1 oder 2 ein Aminosäureaustausch erfolgt ist.

6. Peptid nach einem der Ansprüche 1-5, dadurch gekennzeichnet, daß in Position 3 gegenüber der Sequenz 1 oder 2 ein Aminosäureaustausch erfolgt ist.

7. Peptid, dadurch gekennzeichnet, daß es eine der Sequenzen 5, 68, 69, 71, 78-82 oder 84-91 aufweist, wobei der N-Terminus durch

R_1 Wasserstoff, Acetyl, Trifluoracetyl, Adamantyl, Fmoc, Z, Boc, Alloc, C_1-C_6-Alkyl, C_2-C_8 Alkenyl oder C_7-C_9 Aralkyl,

R_2 Wasserstoff, Acetyl, Trifluoracetyl, Adamantyl, Fmoc, Z, Boc, Alloc, C4-C_6-Alkyl, C_2-C_8 Alkenyl oder C_7-C_9 Aralkyl, bedeuten

und der C-Terminus durch COR_3 dargestellt wird, wobei

R_3 gleich OR_4 oder NR_4R_5
mit R_4 gleich Wasserstoff oder C_1-C_6-Alkyl
mit R_5 gleich Wasserstoff oder C_1-C_6-Alkyl

bedeutet, sowie deren physilogisch verträglichen Salze und Ester.

9. Peptid nach einem der Ansprüche 1-8, dadurch gekennzeichnet, daß es die Insulinfreisetzung stimuliert.

10. Arzneimittel enthaltend neben üblichen Trägern und Hilfsstoffen mindestens ein Peptid nach einem der Ansprüche 1-8.

11. Verwendung von Peptiden nach einem der Ansprüche 1-8 zur Herstellung von pharmazeutischen Zusammensetzungen zur Behandlung von Diabetes.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Interna .al Application No
PCT/EP 97/02930

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 C07K14/575 A61K38/22

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 424 286 A (ENG JOHN) 13 June 1995 * see SEQ ID N. 4* see the whole document ---	1-4,6, 9-11
A	K. ADELHORST ET AL.: "Structure-Activity studies of Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1)" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 269, no. 9, 4 March 1994, MD US, pages 6275-6278, XP002045291 see page 6277, column 1, line 4 - line 7 --- -/--	1-4,6, 9-11

[X] Further documents are listed in the continuation of box C.

[X] Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

1

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
31 Oct ber 1997	14. 11. 97

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Cervigni, S

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. ual Application No
PCT/EP 97/02930

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	J. ENG ET AL: "Purification and structure of Exendin-3" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY., vol. 265, no. 33, 25 November 1990, MD US, pages 20259-20262, XP002045292 see the whole document ---	
A	J. ENG ET AL: "Isolation of exendin-4" J. BIOL. CHEM, vol. 267, no. 11, 15 April 1992, pages 7402-7405, XP002045293 see the whole document -----	

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Interna al Application No
PCT/EP 97/02930

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5424286 A	13-06-95	NONE	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern ales Aktenzeichen
PCT/EP 97/02930

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 C07K14/575 A61K38/22

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 424 286 A (ENG JOHN) 13.Juni 1995 *siehe SEQ ID N. 4* siehe das ganze Dokument ---	1-4,6, 9-11
A	K. ADELHORST ET AL.: "Structure-Activity studies of Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1)" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 269, Nr. 9, 4.März 1994, MD US, Seiten 6275-6278, XP002045291 siehe Seite 6277, Spalte 1, Zeile 4 - Zeile 7 --- -/--	1-4,6, 9-11

[X] Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

[X] Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
31.Oktober 1997	14. 11. 97

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Cervigni, S

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Juli 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern ales Aktenzeichen
PCT/EP 97/02930

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	J. ENG ET AL: "Purification and structure of Exendin-3" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY., Bd. 265, Nr. 33, 25.November 1990, MD US, Seiten 20259-20262, XP002045292 siehe das ganze Dokument ---	
A	J. ENG ET AL: "Isolation of exendin-4" J. BIOL. CHEM, Bd. 267, Nr. 11, 15.April 1992, Seiten 7402-7405, XP002045293 siehe das ganze Dokument -----	

1

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Intern. ales Aktenzeichen
PCT/EP 97/02930

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5424286 A	13-06-95	KEINE	